

Effekt av blåbærekstrakter på hukommelse og finmotorikk hos eldre menn

Et pilotstudium

Anne Marciuch og Ann Kristin Vasstrand



Innlevert som hovedoppgave ved Psykologisk Institutt

UNIVERSITETET I OSLO

Våren 2008

Sammendrag

Forfattere: Anne Marciuch og Ann Kristin Vasstrand

Tittel: Effekt av blåbærekstrakter på hukommelse og finmotorikk hos eldre menn. Et pilotstudium.

Veileder: Kjell Flekkøy

Biveileder: Roald Bjørklund

Bakgrunn: En rekke studier har vist at et økt inntak av frukt og grønnsaksekstrakter rike på antioksidanter (eksempelvis blåbær, jordbær og spinat) kan forsinke og til og med reversere aldersrelaterte svekkelser av nevronal funksjon, samt kognitiv og motorisk funksjon hos rotter. Dette er den første placebokontrollerte studien på effekt av blåbærekstrakter på menneskers hukommelse og finmotorikk. Studien er knyttet til et samarbeidsprosjekt mellom Geriatrik avd., Ullevål Universitetssykehus (UiO) og Institutt for Ernæringsvitenskap, UiO.

Hypotese: Ekstrakt av blåbær bedrer mål på hukommelse og finmotorikk.

Metode: Etter rekruttering på frivillig basis ble 61 eldre normale menn i alderen 67-77 år, med opplevd hukommelsesreduksjon, tilfeldig fordelt til en intervensjonsgruppe (blåbær og druejuice) og en kontrollgruppe. Studien var en 9 ukers dobbelblind intervensjonsstudie. Data ble samlet inn desember 2006 – juli 2007. Forsøkspersonene gjennomførte tester på visuell hukommelse fra et databasert nevropsykologisk testbatteri (CANTAB) samt en test på finmotorikk (Grooved Pegboard) før og etter intervensjon. Kostholdsvaner og helseadferd ble registrert før intervensjonen ved hjelp av et omfattende kostholdsskjema, og en rekke blodprøveparametere ble målt før og etter intervensjon.

Resultater: Det var ingen signifikante forskjeller mellom intervensjons- og kontrollgruppen på de nevropsykologiske målene. Imidlertid ble det funnet interaksjonseffekter mellom gruppe og antall år utdannelse som er vanskelige å tolke. Det diskuteres mulige tolkninger av funnene, samt skisseres forslag til fremtidig forskning.

Forord

Arbeidet med denne hovedoppgaven har vært en lang, men lærerik prosess. Da vi startet som forskningsassistenter for 2 år siden, visste vi lite om hvor lang tid det ville ta å få gjennomført et slikt prosjekt, og hvor mange ting som måtte falle på plass. Håndtering og sjonglering av datainnsamling og hovedpraksis på samme tid var ikke alltid like lett, men vi utviklet etter hvert både organisatoriske evner og en evne til å takle stress. Det var mye som skulle ordnes, både møter og testing med de 61 forsøkspersonene tre ganger i prosjektfasen, bestilling av blodprøver og organisering av saftlevering. Overføring av data til SPSS skulle også vise seg å ikke være bare enkelt, men alt ordnet seg heldigvis til slutt.

Takk til hovedveileder Kjell Flekkøy for sitt engasjement, og for konstruktiv tilbakemelding i skriveprosessen. En takk også til biveileder Roald Bjørklund, samt statistiker Leiv Sandvik. Takk til Siv Kjølrsrud Bøhn for hjelp med både lesing av oppgaven og veiledning på ernæringsrelaterte problemstillinger. Du har vært tilgjengelig for oss hele tiden, og forsøkt å hjelpe der du kan, tusen takk! Vi vil også rette en stor og hjertelig takk til Dag Erik Eilertsen for at du tok deg tid til oss, og hjalp oss gjennom statistiske utfordringer.

Vi vil også gjerne takke Knut Engedal for svar på spørsmål og gjennomlesning av oppgaven, samt Lasse Farner for at vi fikk springe til deg når vi hadde tekniske problemer.

En stor takk til de som har tatt seg tid til å lese oppgaven til to stressa jenter: Ingunn, Kirsten, Torunn, Wanda, Kim, Rune, Dagfinn Vasstrand, Thomas og Katrine. Takk for alle fine tilbakemeldinger og nyttige innspill. En spesiell takk til Kim for at du tok deg tid til å hjelpe oss på tross av at du selv hadde mye å gjøre. En generell takk til alle i kollokvien, venner og familie, samt Thomas og Katrine.

Og sist men ikke minst vil vi takke hverandre, for komplementaritet og humor, som har gjort denne oppgaven mulig.

Oslo, 22. april,

Anne Marciuch og Ann Kristin Vasstrand

Innhold

1.0 Innledning	5
1.1 Strukturelle og funksjonelle forandringer ved aldring	6
1.2 Subjektivt opplevd hukommelsesreduksjon (SMC).....	7
1.3 Mild kognitiv svikt (MCI).....	8
1.4 Alzheimers sykdom (AD)	8
1.5 Biologiske mekanismer ved aldring	9
1.6 Antioksidanter	11
1.7 Effekt av antioksidanter hos dyr.....	12
1.8 Effekt av antioksidanter hos mennesker.....	17
1.9 Målet med studien	20
2.0 Metode	21
2.1 Utvalg	21
2.2 Design.....	22
2.3 Prosedyre	22
2.4 Instrumenter	24
2.5 Statistisk analyse	27
3.1 Deskriptive karakteristika	28
3.2 Eksperimentator effekter	30
3.3 Hovedmål	31
3.4 Biologisk respons – Creatine Kinase (CK)	36
4. 0 Diskusjon.....	38
4.1 Hovedfunn	38
4.2 Tolkninger	41
4.3 Metodologiske utfordringer.....	43
4.4 Styrker ved studiet.....	47
4.5 Fremtidig forskning.....	49
4.6 Oppsummering av funn	50
4.7 Implikasjoner.....	50
5.0 Konkluderende bemerkninger	52
6.0 Referanser	53
Appendiks	62

1.0 Innledning

I år 2010 vil nærmere 16 % av Norges befolkning være over 65 år, og frem til 2050 vil andelen ha vokst til 24 %, eller omtrent 1/4 av befolkningen (Statistisk sentralbyrå, 2007). Den økende andelen eldre vil kunne ha store samfunnsmessige konsekvenser. Blant annet vil antall tilfeller nevrodegenerative lidelser som demens øke (Engedal & Haugen, 2004). Alle tiltak som kan utsette debut av demens, og bedre den eldres kognitive fungering vil derfor ha meget stor betydning både for enkeltindividet og samfunnet (Fratiglioni & Wang, 2007; Petersen et al., 2001; Ritchie & Touchon, 2000).

Vi vet lite om hvorfor vi eldes, og det er i tillegg vanskelig å skille aldersforandringer fra symptomer og tegn på sykdom (Sletvold, 2004). Aldring kan i denne sammenheng defineres som en tilstand der påkjenninger over tid ikke motvirkes og balanseres av beskyttende funksjoner, med svekkelser av nevronal, kognitiv og motorisk funksjon som følge (Joseph, Shukitt-Hale, Casadesus & Fisher, 2005).

Den skadelige tilstanden som inntreffer når det er et overskudd av oksygenradikaler, en nedgang i antioksidantnivåer eller begge, kalles oksidativt stress (Sies, 1997). En rekke studier indikerer at oksidativt stress sannsynligvis er en viktig faktor i hjernens aldring.

Evidens fra studier tyder på at frukt og grønnsaker generelt inneholder antioksidanter som kan redusere sårbarheten for oksidativt stress. Dyrestudier antyder at inntak av disse plantene kan redusere de aldersrelaterte svekkelsene i nevronal og kognitiv funksjon. Dette kan ha relevans for vanlig aldersrelatert kognitiv nedgang, mild kognitiv svikt (Mild Cognitive Impairment, MCI) og nevrodegenerative lidelser som Alzheimers sykdom (AD) (Youdim et al, 2000). Samtidig finnes det studier som tyder på at reduksjon i sårbarhet for oksidativt stress sannsynligvis ikke er den eneste mekanismen bak en forbedring. Man tenker seg at stoffer i frukt og grønnsaker også kan påvirke reguleringen av gener samt nevronal signaloverføring gjennom nevrogenese (dannelse av nye nevroner), eller økt reseptorsensitivitet (Lau, Shukitt-Hale & Joseph, 2006).

Studier har vist markert positiv effekt av blåbærekstrakter på hukommelse og motorikk hos rotter, noe som gjør det relevant å undersøke om denne effekten vil være til stede hos

mennesker. Denne pilotstudien er den første placebokontrollerte studien av effekten av blåbær på menneskers hukommelse og finmotorikk. Studien søker å evaluere effekten av antioksidanter/ blåbær på kognitiv fungering hos eldre menn, samt en eventuell forbindelse med parametere målt i blod.

1.1 Strukturelle og funksjonelle forandringer ved aldring

Aldringsprosessen påvirker de fleste av hjernens funksjoner, men i ulik grad og forskjellig for de enkelte anatomiske regioner (Raz et al., 2005; Schaie, 1994). De strukturene som viser de største forandringer er hippocampus, temporale områder og frontallappene (Raz et al., 2005). Disse strukturene er sentrale for læring, hukommelse og eksekutive funksjoner (Lezak, Howieson & Loring, 2004). Dopaminerge forbindelser i striatum og cerebellum viser markante nevrodegenerative forandringer, og kan representere årsaker til aldersrelatert motorisk svikt (Joseph, 1992).

Det er store individuelle forskjeller i sviktbildet. Et mønster er likevel at tillært kunnskap ("skolekunnskap") forblir relativt uforandret, mens evnen til problemløsning svikter i større grad (Haugen & Nygård, 2003; Schaie, 1994). Gjenkalling av navn er et gjennomgående problem (Archer et al., 2007). Mange av de aldersrelaterte forandringene man observerer ved formell testing skyldes trolig lavere mental hastighet (Luszcz & Bryan, 1999; Schaie, 1994; Whiting & Smith, 1997), samt sviktende hørsel, syn og finmotorikk (Luszcz & Bryan, 1999; Ruff & Parker, 1993). Schaie (1994) fant at kognitiv trening har stor effekt på den kognitive funksjonen hos eldre, noe som tyder på at noe av nedgangen i kognitiv funksjon kan skyldes inaktivitet, og at problemene til en viss grad er reversible.

Sammenlignet med yngre personer har eldre en dårligere utførelse på tester for av rekke ulike hukommelsesfunksjoner, blant annet korttids-, implisitt-, episodisk- og semantisk minne (Carlesimo et al., 1998). Ved økende vanskelighetsgrad og kompleksitet gjør eldre det også dårligere enn yngre (Racine, Barch, Braver & Noelle, 2006; Whiting & Smith, 1997). Schaie (1994) fant i en longitudinell studie en jevn nedgang fra 25 til 81 år på induktiv resonnering, spatial orientering, perseptuell hurtighet og verbalt minne.

Et norsk longitudinelt studie som fulgte personer fra de var 13 til 74 år, fant høy innbyrdes stabilitet på intellektuelle evner. De som ved 74 år rapporterte å opprettholde de sosiale

nettverkene, og som hadde en positiv måte å møte alderdommen på, hadde mindre fall i intellektuelle evner. De som rapporterte redusert helse, hadde fall i evner som krever ny problemløsning (Haugen & Nygård, 2003).

Over de siste årene har det blitt et øket fokus på den aldrende hjernes evne til omorganisering og tilpasning (Greenwood, 2007; Jones et al., 2006). Flere studier har funnet at det ikke alltid er et direkte forhold mellom grad av skade eller patologi, og klinisk manifestasjon av denne (Millis et al., 2001; Stern, 2002). Resultatene er foreslått mediert av en reservefunksjon. Kognitiv reserve (CR) er foreslått som hjernens kapasitet til å håndtere hjernepatologi for å minimere symptomatologi (Solé-Padullés et al., 2007). Stern (2002) foreslår at CR kan sees på som en kombinasjon av aktive og passive prosesser. Aktive prosesser omhandler effektiv benyttelse av hjernes nettverk, som det å kunne skifte strategi når den gamle strategien ikke lenger er tilgjengelig. Dermed kan faktorer som intelligensnivå, utdannelsesnivå og vanskelighetsgrad i arbeid være gode prediktorer på hvorfor noen kan utsettes for større hjerneskade uten å få et funksjonelt utslag. Passive prosesser er knyttet til de anatomiske substratene av CR, som for eksempel antall synapser eller hjernevolum, der en blant annet tenker seg at de som har flere synapser kan motstå mer skade før de får kliniske utfall (Stern, 2002). Det er økende enighet rundt hypotesen om CR, da man i mye litteratur finner støtte for beskyttende effekter av mulige mål på CR, som for eksempel stort antall synapser, høy utdanning og fysisk aktivitet (Barnett, Salmond, Jones & Sahakian, 2006; Fratiglioni & Wang, 2007; Solé-Padullés et al., 2007; Stern et al., 2005). Imidlertid er det også litteratur som ikke finner nevrobeskyttende effekter av mulige mål på CR (Raz et al., 2005).

1.2 Subjektivt opplevd hukommelsesreduksjon (SMC)

Kognitiv fungering hos eldre kan forbli normal, forverres til en tilstand av mild kognitiv svikt (MCI), eller forverres til demens (Feldman & Jacova, 2005).

Opplevelse av sviktende hukommelse er vanlig hos eldre (Glodzik-Sobanska et al., 2007) og er et av Mayo klinikkens kriterier for MCI (Petersen et al., 1999). Prevalensen er estimert til 22 % til 50 % hos personer over 65 år (Archer et al., 2007). Subjektiv hukommelsesreduksjon (Subjective memory complaint) kan predikere fremtidig kognitiv reduksjon, men det er et ustabil mål (Reid & MacLulich, 2006; Glodzik-Sobanska et al., 2007). I et oversiktsarbeid

fant Reid og MacLulich (2006) at SMC var konsistent relatert til depresjon og personlighetstrekk som nevrotisme, og variabelt tilknyttet nåværende kognitiv svikt. SMC er imidlertid et mer valid uttrykk for kognitiv svikt når depresjon ikke foreligger (Kim et al., 2006).

1.3 Mild kognitiv svikt (MCI)

Mild kognitiv svikt (MCI) blir vanligvis betegnet som overgangsfasen mellom kognitive endringer som følge av normal aldring og AD. Personer med MCI har en forstyrrelse i hukommelse som er større enn hva som er forventet for alder og utdanning, men de oppfyller ikke kriteriene for demens (Petersen et al., 1999).

Det finnes flere ulike definisjoner av MCI. Mayo klinikkens definisjon er en av de mest benyttede. Denne innebærer at en persons opplevelse av sviktende hukommelse helst bekreftes av pårørende, og at det foreligger en hukommelsesreduksjon ved nevropsykologisk testing som ikke influerer personens evne til å klare seg i dagliglivet. Svikten skal ikke være av en slik grad at man tilfredsstiller kriteriene til demens (Petersen et al., 2001).

MCI er en risikofaktor for å utvikle AD (Petersen et al., 2001), og en oversiktsartikkel viser at progresjonen fra MCI til demens ligger mellom 6 og 25 % per år (Petersen et al., 2001). Det er usikkert om man skal se på MCI som demens i et tidlig stadium, et eget syndrom, eller som en uspesifikk atferdsmarkør for mange forskjellige helsetilstander (Ritchie & Touchon, 2000). Det er og uklart om personer med MCI alltid utvikler demens eller om noen med MCI forblir på et moderat redusert nivå (Petersen et al., 1999).

1.4 Alzheimers sykdom (AD)

Alzheimers sykdom er den vanligste formen for demens, og kjennetegnes ved ustoppelige progressive nervecelleforandringer med tilsvarende progressiv global reduksjon i intellekt og personlighet (Hannay, Howieson, Loring, Fischer & Lezak, 2004). Obduksjonsstudier viser oppsamling av amyloid plakk og neurofibrillære floker (Braak & Braak, 1991, Schönheit, Zarski & Ohm, 2004). Ved obduksjon av eldre som ikke hadde demens eller annen kognitiv svikt finner man at også disse har oppsamlinger av amyloid plakk og neurofibrillære floker,

men i mye mindre grad (Knopman et al., 2003). Utviklingen av amyloid plakk skyldes blant annet at proteinet amyloid precursor protein (APP) blir delt på feil sted i nedbrytningen, noe som fører til opphopning av β - amyloid. β - amyloid er giftig og fører til celledød (Engedal, 2003; Patterson et al., 2008). Det kan se ut som at utviklingen av amyloid plakk skjer som et antioksidant forsvar mot oksidativt stress (Castellani, Lee, Perry & Smith, 2008).

AD- patologi er nært assosiert med oksidativt stress. Hydrogen peroksid (H_2O_2) er et reaktivt oksygen radikal, og er assosiert med nevrotoksisiteten til β - amyloid. β - amyloid kan danne H_2O_2 , og H_2O_2 s interaksjoner med jern og kobber danner svært giftige reaktive oksygenradikaler. Dette kan tenkes å være en av mekanismene bak det oksidative stresset en finner i AD (Milton, 2004). Det er også funn som tyder på at mange fytokjemikalier i mat fungerer som sterkere beskyttelse mot H_2O_2 enn antioksidanter i vitamintilskudd (Dai, Borenstein, Wu, Jackson & Larson, 2006).

Risikofaktorer for utvikling av AD er blant annet predisponerende genetiske forhold. En mye studert risikofaktor er E e4 allelen på apolipoproteingenet i kromoson 19 (ApoE e4). Spesielt økende alder, men også høyt blodtrykk, traumatisk hodeskade, lav utdanning og livsstilsfaktorer, synes å være faktorer som øker risikoen for AD (Patterson et al., 2008).

1.5 Biologiske mekanismer ved aldring

En rekke nevronale mekanismer har blitt vist å være påvirket av alder. Signifikante reduksjoner forekommer i nevronal signaloverføring som målt ved striatal dopaminfrigjøring og GTPase-aktivitet, kalsiumopptak fra synapser og membran-fluiditet. Alle disse forandringene synes å være forbundet med aldersrelatert oksidativt stress (Galli et al., 2002).

Kalsium homeostase og -opptak, plastisitet og synaptisk funksjon

Den tidligere oppfatning av nevrodegenerasjon som hovedårsak til normal aldring er i stor grad forlatt (Toescu & Verkhratsky, 2000). I stedet har strukturelle og funksjonelle forandringer på synapsnivå vist seg å ha større betydning. Toescu & Verkhratsky (2000) mener at det finnes tegn på at både antall aktive synapser og synaptisk plastisitet er svekket i den eldre hjernen, noe som kan påvirke nevronale nettverk, og spille en rolle i aldersrelaterte mentale svekkelser. Spesielt kalsium (Ca) er viktig på grunn av sin sentrale betydning ved

synaptisk signaloverføring og optimal nevronal funksjon (oversikt i Toescu & Verkhratsky, 2000). En rekke forandringer er observert, blant annet nedsatt Ca-opptak i synapser og forhøyet konsentrasjon av Ca intracellulært hos eldre rotter (Satrustegui et al., 1991; Toescu & Verkhratsky, 2000).

Frie radikaler og oksidativt stress

Oksygenradikaler eller frie radikaler er biprodukter av normal aerob metabolisme, men dannes også under betennelsesreaksjoner og som følge av ytre påkjenninger som ultrafiolett stråling og forurensinger. Produksjonen av radikaler er normalt balansert av cellulære forsvarsmekanismer. Kroppen klarer seg godt med et visst nivå av slike radikaler, men ved forhøyede nivåer eller svekket forsvar mot disse, vil oksidative skader akkumuleres, og cellene skades. Dette kalles oksidativt stress (Blomhoff, 2004). Kroppen har utviklet et komplekst antioksidantforsvar mot slik skade og en rekke antioksidanter finnes naturlig i kroppen. Det har også vist seg at antioksidanter man får gjennom kostholdet er viktige i dette forsvaret (Halvorsen et al, 2002).

Aldring og oksidativt stress

Hjernen bruker om lag 20% av kroppens oksygen. På grunn av sitt høye oksygennivå, lave nivå av antioksidanter og høye nivå av flerumettede fettsyrer kan den tenkes å være spesielt sårbar for oksidativ skade (Butterfield et al., 2006). Hjernen er sårbar også i den forstand at nevronene (i motsetning til gliacellene) ikke fornyes ved celledeling dersom de dør som følge av oksidativ skade (Ames, Shigenaga & Hagen, 1993).

En hypotese ("Frie radikaler-hypotesen om aldring") går ut på at kroppens endogene forsvar mot oksidativt stress svekkes med økende alder. Sammen med dannelsen og akkumuleringen av frie radikaler bidrar dette til oksidativ skade på viktige biologiske molekyler, samt de aldersrelaterte svekkelsene (Fusco, Colloca, Lo Monaco & Cesari, 2007).

Oksidativt stress har vist seg å være involvert i sykdomsutviklingen av mange kroniske lidelser: kardiovaskulære sykdommer, AD og andre nevrodegenerative lidelser, i tillegg til normal aldring og død. Implikasjonen er at et kosthold rikt på antioksidanter kan beskytte mot aldersrelaterte sykdommer og fremme en normal aldring (Joseph et al., 2005).

Inflammasjon

Mye tyder på at en økning av betennelsesreaksjoner i sentralnervesystemet er forbundet med normal aldring (O'Banion & Finch, 1996). Samtidig er økt inflammasjon forbundet med forhøyet produksjon av oksygenradikaler. Betennelse relatert til oksidativt stress har også blitt forbundet med nevrodegenerative lidelser.

1.6 Antioksidanter

Fytokjemikalier

Fytokjemikalier er en samlebetegnelse på en rekke stoffer som planter produserer, og som vi får i oss når vi spiser bær, frukt, nøtter, grønnsaker og liknende. De fleste fytokjemikalier er antioksidanter. Fytokjemikalier kan derfor begrense de oksidative skadene som er forårsaket av reaktive oksygenforbindelser. I tillegg antas disse stoffene også å påvirke mange cellulære prosesser slik som gen-regulering og økt nevronal vekst og nevronal signaloverføring, enten i form av antioksidantegenskaper eller ved andre egenskaper (Youdim & Joseph, 2001).

Antioksidanter

Det finnes flere definisjoner på hva antioksidanter er. Antioksidanter kan defineres som "en hvilken som helst substans som signifikant forsinker eller inhiberer oksidasjon" (Halliwell & Gutteridge, 1989, som sitert i Sies, 1997).

Interessen for antioksidanter har økt de siste årene, og en stor studie har systematisk forsøkt å kartlegge innholdet av antioksidanter i en rekke matvarer (Halvorsen et al., 2002). Fordi forskjellige planter inneholder flere tusen forskjellige antioksidanter, har det vært nyttig å identifisere den totale konsentrasjonen av disse i den enkelte matvare. Tidligere var man opptatt av enkle antioksidanter som vitaminer som vitamin C og E, men trolig er det kombinasjonen av de forskjellige antioksidantene i den enkelte matvare som virker beskyttende. Dette på grunn av at antioksidanter med forskjellige kjemiske egenskaper synes å virke i et integrert nettverk med hverandre. Det er også viktig å merke seg at selv om det totale innholdet av antioksidanter i for eksempel to typer bær er tilnærmet likt, kan ulike sammensetninger eller andre egenskaper ved de ulike bærene gi ulike resultater. Dette kan for eksempel være forskjellig grad av absorpsjon og tilgjengelighet i kroppens celler, mengde som når hjernen, og ulike områder for opptak i hjernen.

Mye tyder på at antioksidanter endrer det nevronale miljøet, slik at inflammasjon, oksidativt stress, og sårbarheten for disse prosessene reduseres.

Blåbær

Blåbær er blant bærene som er rikest på antioksidanter, og har i dyreforsøk vist seg å beskytte hjernen mot frie radikaler, stråling, inflammasjon og nevronal skade og -død. Måling av funksjon og effekt av antioksidanter intracellulært viser også spesielt sterk effekt av blåbær (Wolfe & Liu, 2007).

Av de viktigste innholdsstoffene er antocyanider, som gir bærene den kraftige fargen. Disse er meget gode antioksidanter, og virker også anti-inflammatorisk i tillegg til å redusere lipid oksidering, sannsynligvis ved å direkte endre oksidative og inflammatoriske stress-signalbaner. Det er vist at antocyaninene kan krysse blod-hjerne-barrieren og kan påvises i flere hjerneregioner som er viktige for hukommelse og læring (Andres-Lacueva et al. 2005).

Nyere forskning tyder på at blåbær ikke utelukkende virker gjennom sine antioksiderende egenskaper. Det finnes for eksempel evidens for at stoffer i frukt og bær kan øke fluiditeten til cellemembranen, noe som igjen kan forbedre signaloverføring hos eldre dyr (Canuti-Castelvetri, Shukitt-Hale & Joseph, 2000). Sannsynligvis er det en kombinasjon av effekter som gir de påviste forandringene.

1.7 Effekt av antioksidanter hos dyr

En rekke nevronale og adferdsmessige endringer inntreffer med økende alder, selv i fravær av neurodegenerative lidelser. Selv om alle faktorene involvert i de aldersrelaterte svekkelsene ikke er fullt ut kjente, har forskning pekt i retning av at en viktig faktor kan være en aldersrelatert nedgang i evnen til å redusere langtidseffektene av oksidativt stress. Denne synes på sin side å skyldes en nedgang i kalsiumopptak, og har en stor effekt på cellene. Slik skapes en ”ond sirkel” der oksidativt stress fører til nedgang i kalsiumopptak, noe som leder til økninger i oksidativt stress, noe som til sist fører til de kognitive og motoriske svekkelsene man ser (Joseph et al., 2005).

På tross av flere gode dyremodeller for ulike aspekter ved aldring, er det ennå ingen modell som fullstendig representerer alle aspektene ved menneskelig aldring. Hovedvekten av forskningen omkring antioksidanters effekt, og så vidt vi vet all forskningen på blåbærekstraktens effekt, på hukommelse, læring og motorikk har blitt gjort gjennom dyrestudier.

Den vanligste oppgaven for å undersøke rotters kognitive funksjon er ”The Morris Water Maze” (MWM), en kjent kognitiv test som krever spatial læring og hukommelse. I oppgaven skal dyret finne en plattform, gjemt like under overflaten av et sirkulært basseng, samt huske plattformens plassering fra ett forsøk til det neste (Shukitt-Hale, 1999). Svekket prestasjon på denne oppgaven skyldes en spesifikk svekkelse i eldre rotters evne til å bruke spatial informasjon (Rapp, Rosenberg & Gallagher, 1987). Når det gjelder nevrodegenerative prosesser, synes ikke rotter naturlig å utvikle for eksempel akkumulering av amyloid plakk, noe som gir behov for bruk av modeller med genmodifiserte rotter, eller modeller med høyerestående pattedyr. Det kan og diskuteres om de begrensede kognitive ferdighetene hos rottene er overførbare på de komplekse kognitive svekkelsene en ser hos mennesker. Et annet problem er at disse dyrene er såpass små, og at ”oversettelsen” av tilsvarende dose mellom rotter og mennesker er vanskelig og muligens unøyaktig.

I motsetning til rotter, kan hunder gis en noenlunde lik dose antioksidanter som mennesker, noe som gjør overføringen av resultatene til mennesker lettere. Det har også blitt vist at hunder med økende alder utvikler svekkelser i læring og hukommelse. I tillegg kan de utvikle en form for nevrodegenerativ lidelse som har mange likhetstrekk med de aldersrelaterte kognitive svekkelsene og degenerative lidelsene man ser hos mennesker. Samtidig er det også variasjoner mellom kognitive funksjoner hos aldrende hunder som hos mennesker. Hundene utvikler svekkelser både på enkle og komplekse hukommelsesoppgaver, spesielt visuospatielt arbeidsminne har vist seg å være et sensitivt mål (Cotman et al., 2002, Landsberg, 2005).

Forebygging og forbedring av aldersrelaterte kognitive svekkelser

En rekke hundestudier har vist effekt av antioksidanter i form av forbedring av forskjellige hukommelsesmål hos eldre vs. yngre hunder. I en slik studie (Milgram et al., 2002) fikk både eldre og yngre hunder enten standard diett (kontrollsituasjon), eller kosthold inneholdende en rekke ulike antioksidanter. Etter 6 måneder ble dyrene testet på læringsoppgaver i en diskrimineringssituasjon. Det viste seg at de eldre dyrene lærte saktere enn de unge, og gjorde

signifikant flere feil. Denne aldersrelaterte svekkelsen var imidlertid redusert hos dyrene i antioksidantgruppen, og spesielt på de vanskeligere oppgavene. Siden oksidativt stress ikke er forventet å gi noe betydelig nevronal dysfunksjon før senere i livet, var det ikke overraskende at man ikke så noen effekt hos de yngre hundene. Forskerne har også funnet positive effekter av en antioksidantrik diett etter et tidsrom på 5 uker (Milgram et al., 2000), selv om effekten var noe mindre.

Studier på antioksidanternes effekt hos rotter har vist at en diett rik på disse stoffene kan forbedre aldersrelaterte svekkelser på flere mål. En forbedring er blitt vist både i forhold til funksjoner som læring, hukommelse og motorikk samt bedret nevronal funksjon, eksempelvis bedret Ca-regulering (Galli et al., 2002; Joseph et al., 1998). Diett-tillegg av frukt og grønnsaker med høyt antioksidantinnhold, synes altså å minke sårbarheten for oksidativt stress som øker med alder hos rotter, i form av forbedrede prestasjoner på relevante oppgaver.

Reversering av aldersrelaterte kognitive svekkelser

Joseph et al. (1999) fant at tilskudd av spinat, jordbær eller blåbærekstrakt reverserte aldersrelaterte svekkelser i nevronal, kognitiv og motorisk funksjon hos eldre (19 mnd) rotter. Dyrene i intervensjonsgruppene viste en forbedret prestasjon sammenliknet med eldre dyr som ikke hadde fått blåbærtilskudd. Oppgavene som ble brukt var alderssensitive; noe som vil si at kontrolldyr viser svekkelser på testmålene fra og med 15 måneders alder.

Endringene var særlig synlige i forhold til forbedret arbeidsminne som målt ved MWM, samt økning i striatal dopaminfrigjøring og kalsiumregulering. Imidlertid var det bare blåbærgruppen som viste forbedring på de motoriske testene, spesielt på oppgaver som krevde balanse og koordinasjon, mens de andre gruppene ikke skilte seg signifikant fra kontrollgruppen. I følge forskerne var dette den første studien som viste at tilskudd av frukt- eller grønnsaksekstrakter rike på antioksidanter faktisk kan *reversere* noen av de aldersrelaterte nevronale/adferdsmessige dysfunksjonene dyrene viste før intervensjonen. Sammenlignet med spinat og jordbær var blåbærekstrakt mest effektivt i forbedring av prestasjonene. Dyrene i denne gruppen viste dessuten også størst effekt med hensyn på reversering av de skadelige alders-effektene målt ved Ca-homeostase.

Flere andre studier har vist det samme. Bickford et al. (2000) undersøkte effekten av antioksidanter i blåbær, jordbær og spinat på aldersrelaterte motoriske svekkelser, og fant forbedret motorisk læring og reversering av redusert reseptorfunksjon.

I en annen studie ble rotter på blåbær- og kontroll-diett testet for objektgjenkjenning (Goyarzu et al., 2004). Denne type hukommelse er interessant da den har blitt vist å være svekket hos normale eldre mennesker og ved AD (Joyce, Paller, McIsaac & Kutas, 1998). Eldre rotter var ikke i stand til å utføre den aktuelle oppgaven, spesielt i betingelsene som krevde utsatt gjenkjenning. Denne svekkelsen ble imidlertid ikke observert hos de eldre rottene som fikk blåbærtilskudd. Ulike regioner av rottenes hjerner ble senere undersøkt for nivåer av et signalmolekyl (nukleær faktor kappa B), som er en sterk indikator på oksidativt stress. Det viste seg at nivået av dette var redusert hos rottene som hadde fått blåbær, slik at disse hadde omtrent like nivåer av dette stoffet som de yngre rottene.

Hjerneregional spesifisitet

I en oversiktsartikkel (Joseph, Shukitt-Hale & Lau, 2007) pekes det på at så langt synes virkestoffene i blåbær å være noen av de få stoffene som er effektive i forhold til reversering av motoriske svekkelser. Dette kan tenkes å skyldes en selektivitet i forhold til hjerneregioner for de ulike fytokjemikaliene i de ulike frukter og bær. Shukitt-Hale et al. (2007) gav unge rotter tilskudd av blåbær, jordbær, eller en kontrolldiett, bestrålte dem med jernioner (tidligere påvist å gi alderslignende defekter i kognitiv og motorisk prestasjon) og fant at både jordbær og blåbær gav en beskyttelse mot ståleskadene. Blåbær gav størst beskyttelse mot svekkelsene på hukommelsesoppgaver med krav til intakt striatal funksjon, slik som reversert læring i MWM, i tillegg til en forbedring på latensmål. Dyrene i jordbær-gruppen viste derimot bedre hippocampalt avhengig fungering: øket gjenkalling av stedsinformasjon og mindre feil på oppgaver der de skulle huske hvor plattformen i MWM hadde vært.

Dette er interessant, fordi det viser muligheten for at de forskjellige fytokjemikaliene i de forskjellige typene bær og frukt faktisk kan tenkes å virke forskjellige steder i hjernen. Selv om forfatterne understreker at denne hypotesen trenger nærmere avklaring, tyder blant annet denne studien på at sammensetningen i blåbær virker mer effektivt i striatum, mens for eksempel jordbær har mer effekt på funksjoner primært mediert av hippocampus. Dette understøttes også av studier som viser at blåbær synes å være blant de mest effektive ifht. bedring av motoriske svekkelser (se over, Joseph et al., 1999).

Lesjonsstudier

Antioksidanter har også vist seg å ha en effekt ved påførte skader i hjernen. I en studie (Spangler et al., 2003), fikk 3 mnd gamle rotter enten en kontrolloddiett, eller en blåbærdiett i 8-10 uker. Deretter fikk rottene enten kjemisk induserte lesjoner i den dorsale delen av hippocampus, eller innføring av injeksjonsnålen som kontroll. Forskerne testet deretter dyrenes evner i en komplisert labyrintoppgave som har vist seg å være sensitiv for hippocampal dysfunksjon. Resultatene viste at rottene med industert lesjon viste markerte svekkelser sammenliknet med rottene som kun hadde fått innføring av nålen. Rottene som hadde fått blåbærdiett, viste også slike svekkelser, men signifikant mindre enn rottene som hadde fått kontrolloddiett.

En liknende studie (Duffy et al., 2007) viste det samme. Senere undersøkelser av hjernevev viste også at rottene i kontrollgruppen hadde signifikant størst tap av nevroner sammenliknet med dyrene i blåbærgruppen. Det kan synes som om blåbær i dette tilfellet gir en signifikant beskyttelse mot nevrotoksiske skader. Forfatterne mener at studien også viser en beskyttende effekt av blåbær ut over det rene antioksidanter gir.

Flere andre studier har fått liknende resultater; blant annet har supplering med blåbær vist seg å beskytte nevronene etter industert nedsatt blodtilførsel (Sweeney et al., 2002) eller økt gjenervervelse av dopaminerg funksjon, etter injeksjon med et stoff som fører til et progressivt tap av dopaminnevroner (Stromberg et al., 2005).

Studien til Duffy et al. (2007), sammen med andre studier, indikerer altså at blåbær gir økt nevronal signaloverføring i skadede områder og mer effektiv kommunikasjon mellom nevroner, noe som til sist fremmer kognitiv og motorisk funksjon. Samlet gir studiene holdepunkter for at blåbær og andre liknende frukt/bær som er rike på antioksidanter kan tenkes å ha betydning for forbyggingen, og kanskje også behandlingen av nevrodegenerative lidelser.

Molekylære mekanismer for blåbæreffekt - modulering av hippocampal plastisitet

”Hjernens plastisitet” refererer til hjernens evne til omorganisering på basis av nye erfaringer. Forbindelser mellom nevroner kan endres, og aktivitet forbundet med en gitt funksjon kan omorganiseres eller ”flyttes” til funksjonelt tilsvarende regioner som effekt av erfaring eller skade (Websters New World Medical Dictionary, 2003). Nevroner dannes kontinuerlig hele livet (nevrogenese), og synes å være en av flere underliggende mekanismer for nevronal

plastisitet. Hippocampal nevrogenese synes imidlertid å avta sterkt med økende alder; en reduksjon som også synes å være forbundet med kognitive forandringer (Kempermann, Gast & Gage, 2002). Redusert plastisitet er trolig et gjennomgående trekk ved det aldrende nervesystemet (Crutcher, 2002).

De molekylære mekanismene bak den positive effekten av bær, frukt og grønt for hjernens funksjon er fortsatt uklare, men er trolig forbundet med modulering av hjernens plastisitet. I en studie av Casadesus et al. (2004) ble mekanismene bak effekten av blåbær undersøkt, blant annet ved måling av endringer i mål på hippocampal plastisitet. I tillegg til at rottene i blåbærgruppen gjorde det bedre på en labyrintoppgave enn rottene i kontrollgruppen, viste disse dyrene også en rekke positive endringer på mål på øket nevronal vekst og signaloverføring. Disse var blant annet økte nivåer av enzymer involvert i signaloverføring, i tillegg til økte nivåer av ekstracellulær signalregulert kinase (ERK). ERK er et nevront kjemisk stoff som synes å beskytte nerveceller og inngå i en rekke hukommelsesfunksjoner. Noe av effekten av blåbær synes derfor å kunne tilskrives en forbedret nevronal funksjon av hjerneområder påvirket av aldring.

1.8 Effekt av antioksidanter hos mennesker

I epidemiologiske studier har man funnet en positiv effekt av supplering med antioksidanter på mål for kognisjon hos eldre mennesker. Disse studiene undersøker imidlertid effekten av enkle antioksidanter som vitaminer, og ikke hele frukt/bær. I Honolulu-Asia studien (Masaki et al., 2000), en longitudinell studie fra en kohort på menn over 70 år, fant man at tilskudd av vitamin C og E synes å ha en beskyttende effekt mot vaskulær demens og visse andre former for demens, men ikke mot AD. Personene som tidligere hadde oppgitt å ta vitamin C/E, gjorde det også signifikant bedre på kognitive tester 3-5 år senere. Ortega et al. (2002) fant en positiv effekt av vitamin E-status på kognitive funksjoner.

Det synes også som antioksidanter i form av diett-tilskudd kan redusere risikoen for AD og de kognitive svekkelsene forbundet med denne lidelsen. Zandi et al. (2004) så for eksempel i en longitudinell studie på forholdet mellom antioksidantsupplering og risiko for AD, og fant at bruk av vitamin E og C var forbundet med lavere forekomst av AD.

Dai et al. (2006) undersøkte om frukt- og grønnsaksjuice minsket insidens-risikoen for AD i et populasjonsbasert prospektivt studium av 1836 japanske amerikanere uten demens ved baseline i 1992-1994, med oppfølging til 2001. Forskerne sammenliknet risiko for AD hos personer som drakk juice mindre enn en gang i uken, med de som drakk juice 1-2 ganger i uken, og de som drakk juice minst tre ganger i uken. Resultatene viste at risikoen for AD hos de som drakk minst tre ganger i uken var betydelig mindre enn for de andre gruppene.

De fant også at den positive effekten av nivå av juiceinntak var mer uttalt hos personer med ApoE e4 og hos personer som ikke var fysisk aktive. Det ble ikke funnet noen sammenheng for inntak av vitamin E, C, β -karoten eller te. Disse resultatene tyder på at frukt- og grønnsaksjuice kan bidra til utsettelse av AD-debut, særlig hos dem som har høy risiko for å utvikle sykdommen.

Supplering av diett med enkle antioksidanter (eks. kun vitamin C eller kun E) synes å være mindre effektivt enn en kombinasjon av disse to. Supplering med antioksidanter av denne type gjennom mat (kosthold) ser også ut til å være like effektivt som tilskudd i form av piller. Morris et al. (2002) ba for eksempel deltagerne om å oppgi all mat de spiste, og regnet ut innhold av blant annet vitamin E. Deltakere som hadde et høyt inntak av vitamin E gjennom mat og ikke tok kosttilskudd, gjorde det like bra og hadde like liten nedgang i prestasjon som personer som tok tilskudd, sammenliknet med personer med lavt inntak av vitamin E gjennom mat og ingen inntak av tilskudd.

Likevel har ikke alle slike demografiske studier vist positive resultater, og i mange av studiene er korrelasjonene mellom inntak av antioksidanter og kognitiv fungering lave eller moderate. Det kan være vanskelig å trekke årsaksslutninger fra slike undersøkelser. For eksempel kan forskjellene i resultater kan skyldes skjevheter i utvalg og kognitive mål. Eksempelvis kan det være forskjeller i hvor ofte kosttilskudd brukes. Det kan tenkes at kvinner og personer med høyere utdanning eller sosioøkonomisk status er mer opptatt av eller har flere muligheter til å ta slike tilskudd, eller at antioksidanter man får igjennom kosten (ikke kontrollert for i alle studier) er større enn effekten man får gjennom tilskudd. Det kan også tenkes at personer som tar kosttilskudd generelt har en sunnere livsstil, noe som i seg selv vil virke positivt inn på for eksempel sykdomsutvikling. Utfallet i epidemiologiske studier kan i tillegg være avhengig av populasjonen som studeres, validiteten og relevansen av utfallsmålene, og personenes

rapportering. Slike studier kan heller ikke si noe sikkert om hvilke mekanismer som ligger bak eventuelle effekter.

Ginkgo biloba er et antioksidantrikt tilskudd, laget av bladene på ginkgo biloba-treet, og har vært fokus for mye forskning i forhold til hukommelse og oppmerksomhet, med varierende resultater (Birks, Grimley Evans & Lee, 2007; Elsabagh, Hartley, Ali, Williamson & File, 2005; Van Dongen, Van Rossum, Kessels, Sielhorst & Knipschild, 2003). Van Dongen et al. (2003) undersøkte effekten av ginkgo biloba (80mg og 120mg kapsler med ekstrakter i 24 uker) hos 214 eldre personer med Age-Associated Memory Impairment (AAMI) og AD i et dobbel blind, placebokontrollert randomisert forsøk. Forsøkspersonene ble undersøkt for hukommelse og forskjellige kliniske mål. Det ble ikke funnet signifikante forskjeller mellom intervensjon og placebogruppen, og heller ingen doseavhengig effekt. Elsabagh et al. (2005) undersøkte akutt effekt av ginkgo biloba (forsøkspersonene ble testet igjen etter 4 timer) og langtidseffekt (tabletter med 120mg ekstrakt hver dag i 6 uker) på 52 unge, friske frivillige forsøkspersoner i et placebokontrollert, randomisert, dobbelblind forsøk. De fant en signifikant effekt under akuttbetingelser på oppmerksomhet og mønstergjenkjenning, men ingen effekt på arbeidshukommelse, planlegging, mental fleksibilitet og stemningsleie. Det ble ikke funnet noen signifikante effekter på noe mål i langtidssituasjonen. Toleranseutvikling ble pekt på som en mulig årsak til at en fant effekt i den akutte, men ikke i den kroniske betingelsen. En metastudie (Birks, Grimley Evans & Lee, 2007) konkluderer med at ginkgo biloba har inkonsistente og lite overbevisende effekter på kognitiv svikt og demens. Birks et al. (2007) fant at de større og best kontrollerte studiene ikke påviste forskjeller mellom ginkgo biloba og placebo, og at man ikke kan utelukke at de positive funnene i litteraturen skyldes et publiseringsbias.

1.9 Målet med studien

Resultatene fra en rekke studier, som vist over, peker i retning av at ekstrakter av blåbær/antioksidanter kan ha positiv effekt på dyrs hukommelse og motorikk. Hovedmålet for denne studien var å undersøke om ekstrakt av blåbær har effekt på mål for hukommelse og finmotorikk også hos mennesker, noe som etter vår kjennskap hittil ikke har blitt gjort.

I tillegg ønsket vi å kontrollere for effekter av alder, fremskredenhet av kognitive svekkelser og generelt evnenivå, da disse målene kan tenkes å kunne forklare en del av variansen i resultater i liknende studier.

Hypotese:

Ekstrakt av blåbær bedrer mål på hukommelse og finmotorikk.

2.0 Metode

2.1 Utvalg

Utvalget besto av 61 personer, alle menn i alderen 67-77 år, som ble rekruttert på frivillig basis etter annonse i VG og Aftenposten i desember 2006. Alle deltakerne gav sitt skriftlige informerte samtykke til å delta i studien. Regional Etisk Komité for Medisinsk Forskning (REK) og Ullevål Universitetssykehus har godkjent prosjektet.

Inklusjonskriterier:

Menn mellom 67 og 77 år, med en subjektiv opplevd gradvis hukommelsesreduksjon.

Eksklusjonskriterier:

Tidligere hodetraume med bevissthetstap og bestående symptomer, hjerneslag innenfor 3 siste år og/eller symptomer etter hjerneslag, demens, annen hjernedegenerativ sykdom eller kognitiv svikt; skåre Mini Mental Status Examination (MMSE) under 26 (Folstein, Folstein & McHugh, 1975; Norsk versjon ved Engedal og Haugen). Depresjon som målt ved Montgomery - Åsberg depression rating scale (MADRS) skåre over 20 (Montgomery & Åsberg, 1979). Pågående behandling for kreft (cytostatika), diabetes, rapportert alvorlig psykisk sykdom, rapportert alkohol/stoffmisbruk, samt syns-, hørsels- eller motoriske problemer som ville gjøre gjennomføringen av testene vanskelig.

Det var i utgangspunktet tenkt at utvalget skulle være på 60 personer. For å kunne kompensere for mulige frafall ble 65 personer inkludert. En person trakk seg før eksperimentfasen startet, mens 3 personer valgte å avslutte forsøket før re-testing, grunnet magebesvær.

Bakgrunn for sammensetning av utvalg

For å redusere irrelevant variasjon knyttet til kjønn i et lite utvalg, valgte man kun å inkludere menn. Valg av aldersgruppe ble gjort på bakgrunn av at 67-77 år er en aldersgruppe der et økende antall begynner å oppleve svekket hukommelse, men uten at innslaget av aldersrelatert demens samt andre nevrodegenerative lidelser er vesentlig.

2.2 Design

Studien hadde et randomisert dobbelblind design, der forsøkspersonene ble tilfeldig fordelt på en eksperimentgruppe som fikk aktiv substans, og en kontrollgruppe som fikk placeboprodukt, med sammenlikning av test-retest forskjeller mellom de to gruppene på en rekke nevropsykologiske mål. Deltagerne ble testet en gang før intervensjonen startet, og deretter etter 9 uker.

2.3 Prosedyre

Telefonscreening

Seleksjon av deltakere ble gjort gjennom et telefonintervju der de som ringte gjennomgikk en kort screening i forhold til eksklusjonskriteriene. Personene som på dette tidspunkt oppfylte kriteriene, ble invitert til et første møte på UUS.

Første møte

Første møte hadde form av et semi-strukturert intervju for innhenting av demografiske data, samt en kartlegging av tidligere og nåværende sykdommer og skader, en egenvurdering av hukommelse/hukommelsesproblemer, samt administrering av MMSE og MADRS, og endelig vurdering av personene i forhold til inklusjons og eksklusjonskriteriene.

Deltagerne som ble vurdert til å oppfylle kriteriene for deltagelse i studien fikk informasjon om studien og opplyst om muligheten til å trekke seg når som helst i prosjektfasen. Denne informasjonen ble gitt både muntlig og skriftlig. Alle opplysninger ble behandlet konfidensielt. Deretter gav deltagerne sitt skriftlige informerte samtykke, samt fikk med seg et spørreskjema om kosthold til utfylling hjemme. Til slutt ble de nevropsykologiske testene administrert for tilvenningsformål. Siden dette er et eldre utvalg ønsket vi å sikre at forsøkspersonene hadde forstått instruksjonene, samt bli kjent med testene. I tillegg ønsket vi å minimere en sterk læringseffekt ved retest.

Baseline testing

Ved første testsesjon fikk forsøkspersonene tildelt et identifikasjonsnummer, med en tilhørende randomisert kode for fordeling på eksperiment- og kontrollgruppe. De

nevropsykologiske testene ble administrert. Alle deltakerne ble testet individuelt og av samme test-administrator alle gangene.

Blodprøve

Deltagerne ble i tillegg bedt om å ta en blodprøve på Furst laboratorier på Furuset. Hensikten med blodprøven var bl.a. å undersøke genprofiler og en rekke blodprøveparametere før og etter intervensjon med aktivt stoff/placebo ved Avdeling for Ernæringsforskning, UiO. For mer informasjon om de enkelte blodprøveparametrene se <http://www.furst.no/bb/index6.html>.

Eksperimentfasen

Etter at blodprøven var gjennomført fikk personene levert kartonger med umerket intervensjonsprodukt for 12 ukers forbruk. Deltagerne ble i eksperimentfasen dessuten fulgt opp av personer ved Avdeling for Ernæringsforskning pr. telefon hver 14. dag, for motivering for videre deltagelse samt mulighet for tilbakemeldinger.

Juice

Deltagerne skulle drikke 2 kartonger á 330 ml blåbær/druejuice hver dag i 9 uker. Både placebo og aktivt produkt ble produsert av Tine. Juicen besto av usukret blåbær og druesaft. Placeboproduktet var kunstig, men tilnærmet identisk det aktive når det gjelder lukt, farge og smak, samt balansert med hensyn til innhold av blant annet kalorier og karbohydrater. Druer ble inkludert i det aktive produktet da disse inneholder mange relevante virkestoffer. I tillegg er blåbærjuice bitter på smak, slik at tilsatt druesaft gjør juicen lettere å drikke. Både placebo og juice ble pasteurisert i 4 sekunder på 95 °C.

Retesting

Etter 9 uker ble deltakerne kalt inn til ny blodprøve samt retesting, som skulle gjennomføres mens de fortsatt drakk juice. Omtrent halvveis i eksperimentfasen inntraff et bytte av rom, noe som gjorde at om lag halvparten av deltakerne ble retestet på et annet rom enn der baseline-testingen foregikk. Ved kontroll for dette var det imidlertid ingen signifikante resultater, noe som tyder på at dette ikke hadde stor betydning.

2.4 Instrumenter

Anamnestisk semistrukturert intervju

Et anamnestisk intervju utviklet for kartlegging av alder, utdanning, tidligere arbeid, tidligere og nåværende sykdommer og skader, bruk av kosttilskudd og alkoholkonsum ble foretatt ved første møte. I tillegg ble et kostholdsskjema (utviklet av Monica Carlsen ved avd. for Ernæringsforskning) for kartlegging av kosthold, medisinbruk samt relevant helseadferd utdelt for utfylling.

Kliniske instrumenter

MADRS ble benyttet til å kartlegge eventuell depresjon. MMSE ble benyttet for å kartlegge kognitiv status. Begge disse ble brukt som screenings-verktøy.

Nevropsykologiske tester

For vurdering av hukommelsesfunksjoner (visuelt minne) ble utvalgte tester fra Cambridge Cognition Test Battery (CANTAB) brukt. Disse ble administrert i parallellversjon, slik at stimuli i testene ikke var likt de tre gangene. Testene er PC-baserte, og ble administrert ved bruk av en trykksensitiv skjerm. I tillegg ble "Grooved Pegboard" fra Halstead Reitan testbatteri brukt som mål på finmotorisk tempo og kontroll. Før de nevropsykologiske testene gjennomgikk deltakerne en kort screeningtest (Motor Screening Test) også fra CANTAB. Formålet med denne var å gjøre deltakerne kjent med måten å svare på oppgavene på, samt kontrollere for eventuelle problemer med skjerm, responstid eller forståelse av oppgavene.

Oversettelse til norsk

Instruksjonene fra CANTAB ble oversatt fra engelsk til norsk av Ann Kristin Vasstrand og Anne Marciuch, og godkjent av Kjell Flekkøy. Instruksene ble lest opp fra arket.

I. CANTAB

CANTAB er et validert, standardisert PC-basert testbatteri for prøving av oppmerksomhet, konsentrasjon, hukommelse og problemløsning, der deltakerne bruker en trykksensitiv skjerm til å svare på oppgavene. Metoden er stabil over testsesjoner og sensitiv for tidlige endringer av minnefunksjoner. Enkelte av testene er graderte, og er sensitive for forskjellige evnenivåer, samtidig som tak-effekter hos yngre og normale subjekter, samt bunn-effekter hos eldre eller svekkede individer unngås (Fray, Robbins & Sahakian, 1996). Enkelte tester i batteriet har

dessuten vist seg å være sensitivt i å avdekke kognitive endringer og tidlige effekter av nevrodegenerative lidelser som Alzheimers (Égerházi, Berecz, Bartók & Degrell, 2006; Blackwell et al., 2004).

Samtidig har CANTAB også vært brukt i liknende studier der diettfaktorers innvirkning på kognitive funksjoner har vært undersøkt. I denne studien ble de visuelle hukommelsestestene; Delayed matching to sample (DMS), Paired associates learning (PAL), Pattern recognition memory (PRM), samt Spatial recognition learning (SRM) brukt, og administrert i denne rekkefølgen.

a) Delayed Matching to sample (DMS):

DMS måler tvungen-valg gjenkjennelse av ikke verbale mønstre, og tester både simultan og utsatt korttidshukommelse for visuelle mønstre. Testen er primært sensitiv for skader i medial-temporal lappen, med noe input fra frontallappene (Cambridge Cognition, 2006). I testen får testpersonen se et komplekst visuelt mønster (målstimulus), og må matche dette med ett av fire mønstre som presenteres samtidig (det vil si både målstimulus og de fire valg-stimulus forblir på skjermen samtidig), eller med et opphold på 0, 4 eller 12 sekunder.

For DMS ble antall korrekte responser for alle opphold (0, 4 og 12 sekunder), antall korrekte responser på 4 sekunders betingelsen, samt gjennomsnittlig latens for alle riktige responser målt.

b) Paired associates learning (PAL):

PAL måler visuell hukommelse og ny læring, og kan brukes i vurderingen av pasienter med mulig demens, Alzheimer lidelse og aldersrelatert hukommelsestap. Testen er primært sensitiv til endringer i medial temporallapps fungering (Cambridge Cognition, 2006). I testen blir 6 bokser (8 bokser i siste stadie) presentert på skjermen, og åpnes i randomisert rekkefølge. En eller flere av dem vil inneholde et mønster, avhengig av stadiet i testen. De viste mønstrene blir så vist ett om gangen på midten av skjermen, og forsøkspersonen skal velge boksen der mønstret opprinnelig ble vist. Dersom forsøkspersonen gjør en feil, blir mønstrene vist igjen. Vanskelighetsgraden øker utover i testen ved at antallet mønstre som blir vist øker fra to til åtte.

Fra PAL ble 5 mål valgt ut. Disse var gjennomsnittlig antall forsøk for å klare testen (Mean trials to success), totalt antall feil gjort, totalt antall feil i henholdsvis 6 og 8 mønster betingelsene (Total errors, Total errors 6/8 shapes), samt en score på antall mønstre korrekt plassert på første forsøk over alle forsøk (First trial memory score). Særlig antall feil i 6 og 8 mønster betingelsene har vist seg å være sensitive mål. Antall feil i 6 mønsterbetingelsen har vist seg å differensiere mellom personer med Alzheimer og friske kontroller. Antall feil i 8 mønsterbetingelsen er spesielt egnet til å måle hukommelse og ny læring hos høytfungerende individer, og er passende for utvalg der man er bekymret for tak-effekter (Cambridge Cognition, 2006).

c) Pattern recognition memory (PRM):

PRM måler visuell gjenkjennelse for mønstre i et 2-valgs diskriminasjons paradigme. Testen er spesielt sensitiv for dysfunksjon i medial-temporale områder, og i tillegg også noe sensitiv for frontallappsfunksjon (Cambridge Cognition, 2006). Forsøkspersonen blir vist serier med 12 visuelle mønstre. I gjenkjennelsesfasen blir personen bedt om å velge mellom mønster han har sett og ett nytt mønster. Denne testen gir to mål, gjennomsnittlig antall korrekte responser, og gjennomsnittlig latens.

d) Spatial recognition memory (SRM):

SRM måler gjenkjennelse for spatiale plasseringer, og er en test på spatialt gjenkjennelsesminne i en 2-valgs diskriminasjonsparadigme. Testen er primært sensitiv for dysfunksjon i frontallapp, og relativt lite sensitiv til temporallapps skade (Cambridge Cognition, 2006). Forsøkspersonen blir vist en hvit firkant, som dukker opp sekvensielt på forskjellige plasseringer på skjermen. I gjenkjennelsesfasen blir personen bedt om å velge den av to firkanter som er på en plassering tidligere vist. Testen gir to mål; gjennomsnittlig antall korrekte responser, og gjennomsnittlig latens.

For beskrivelse av de enkelte utfallsmålene fra CANTAB, se Appendiks.

II. Grooved Pegboard

Grooved pegboard (Kløve, 1963, Matthews & Kløve, 1964) måler motorisk kontroll og psykomotorisk hastighet og koordinasjon. Det består av et rektangulært brett med 5 X 5 nøkkelliknende hull, vinklet i forskjellige retninger. Hver pinne er identisk, og passer inn i hullene, men må roteres inn i posisjon for korrekt innføring. Skåre er tid for fullføring, begge hender ble testet.

Operasjonalisering

Alder ble operasjonalisert som alder i antall år. **Fremskredenhet av kognitive svekkelser** ble målt som antall år med problemer med hukommelse, med bakgrunn i antagelsen om at personer med lengrevarende hukommelsesendringer har en større grad av kognitiv svikt.

Generelt evnenivå ble operasjonalisert som antall år utdanning, med grunnlag i korrelasjon mellom evnenivå og utdanning, som synes å ligge rundt .55 (Neisser et al., 1996).

2.5 Statistisk analyse

Gjennomsnittsforskjeller mellom de to gruppene (eksperiment og kontroll) med hensyn til pretest, posttest og differanse mellom pre- og posttest, ble undersøkt ved t-tester for uavhengige utvalg. Samvariasjoner mellom utfallsmål og alder, antall år utdanning og varighet av problemer, ble undersøkt ved korrelasjonsanalyser (Pearson's r). Alle utfallsmål ble dessuten analysert ved en variansanalyse med differansen mellom pre- og posttest som avhengig variabel, gruppe (eksperiment vs. kontroll) som en uavhengig faktor og alder, år utdanning og varighet av problemer som uavhengige kovariater.

Alle analyser ble gjort ved hjelp av SPSS for Windows. Når det henvises til at effekter (forskjeller) er "statistisk signifikante" er dette ut fra et forkastningsnivå på 5%.

3.0 Resultater

Den aktuelle studien søkte å studere sammenhengen mellom oksidative prosesser og kognitiv fungering. Studien tok for seg spørsmålet om hvorvidt en supplementering med blåbær/drue juice ville ha en effekt på mål på hukommelse hos eldre menn med subjektivt opplevd hukommelsesreduksjon. I tillegg var det ønskelig å undersøke en eventuell sammenheng mellom endringer på blodprøve parametere og hukommelsesmål, slik at personer som har en signifikant endring i slike parametere for eksempel har en sterkere endring på hukommelsesmålene.

3.1 Deskriptive karakteristika

Ved baseline testing viste utvalget ingen kognitiv svikt, målt ved MMSE, og heller ingen depresjon, målt ved MADRS.

De to gruppene skilte seg ikke signifikant fra hverandre mht. alder, antall år utdanning, antall år i arbeid, nivå av depresjon (MADRS) eller kognitiv svikt (MMSE). For antall år med hukommelsesproblemer var det imidlertid en signifikant forskjell mellom gruppene ($p = .03$); (Se Tabell 1).

Tabell 1. Demografiske og kliniske karakteristika

	<i>Gjennomsnitt og standardavvik (SD) for</i>		
	Eksperimentgruppe	Kontrollgruppe	p
Deltakere (n)	31	30	-
Alder (år)	72 (4)	71 (3)	0.40
Utdanning (år)	16 (4)	16 (3)	0.74
Arbeid (år)	44 (8)	44 (8)	0.97
Hukommelsesproblemer (år)	2.81 (2.02)	4.52 (3.05)	0.03*
Kliniske karakteristika			
MADRS skåre	1.44 (1.39)	2.14 (2.42)	0.17
MMSE skåre	28.53 (1.16)	28.83 (0.97)	0.28

En t-test (t-test for uavhengige grupper) for forskjellene mellom de to gruppene på utfallsmålene ved baseline viste ingen signifikante forskjeller, med unntak av SRM Number correct ($p=.032$), der kontrollgruppen gjorde det noe bedre.

Det var i tillegg ønskelig å se om utvalget i studien ved baseline skilte seg fra normene på testene fra CANTAB. Selv om normene for den aktuelle aldersgruppen har svært små utvalg (fra 24 personer for PRM og SRM), oppgis disse i Tabell 2, hvor også utregnet t-verdi vises.

Tabell 2: Funksjonsnivå i utvalget ved første testing

	Utvalg (n=61)		"Normer"					
	<i>gj. sn</i>	<i>sd</i>	<i>n</i>	<i>gj. sn</i>	<i>sd</i>	<i>se</i>	<i>df</i>	<i>t</i>
DMS (Delayed Matching to Sample)								
Total correct all delays	12.18	1.56	46	22.54	3.46	0.499	105	-20.78
Total correct 4000 ms delay	3.85	0.98	46	7.63	1.65	0.256	105	-14.78
Mean correct latency all delays	4125.27	1043.06	391	4321.84	1373.31	183.643	450	-1.07
PAL (Paired Associates Learning)								
First trial memory score	11.66	3.21	109	15.41	3.95	0.592	168	-6.33
Mean trials to success	2.63	0.92	109	2.40	0.91	0.146	168	1.57
Total errors (adjusted)	25.20	18.12	443	32.05	25.79	3.414	502	-2.01
Total errors 6 shapes	8.75	7.72	109	12.67	13.06	1.830	168	-2.14
Total errors 8 shapes	14.51	11.88	-	-	-	-	-	-
PRM (Pattern Recognition Memory)								
Number correct	20.70	2.69	24	19.58	3.05	0.673	83	1.66
Mean latency	2611.44	891.84	24	2458.73	682.92	202.204	83	0.76
SRM (Spatial Recognition Memory)								
Number correct	14.66	2.46	24	15.21	1.91	0.559	83	-0.98
Mean latency	2591.16	764.71	24	2947.54	1295.17	227.008	83	-1.57

t-verdi med uthevet skrift: $p < .05$

Deltakerne ble i tillegg ved baseline bedt om å klassifisere sin opplevelse av eventuelle hukommelsesproblemer på 10 spørsmål, med svaralternativene ”ingen”, ”noen” eller ”store”. Ved inklusjon rapporterte alle forsøkspersonene å oppleve en hukommelsesreduksjon. Noen ville imidlertid ikke definere dette som et problem, men heller en naturlig del av aldring.

Deltagernes redegjørelse på disse hukommelsesspørsmålene er presentert i Tabell 3.

Tabell 3: Subjektive symptomer. Rapportert forekomst (antall); ingen/noen/store.

<i>Symptomer på hukommelsesproblem</i>	<i>Eksperimentgruppe (N=31)</i>	<i>Kontrollgruppe (N=30)</i>	<i>Total (N=61)</i>
Opplevelse av hukommelsesproblem	3/27/1	2/27/1	5/55/1
Endring i hukommelsen fra tidligere	1/29/1	0/25/5	1/54/6
<i>Problemer med å huske:</i>			
Hendelser for få minutter siden	24/7/0	20/10/0	44/17/0
Navn	2/25/4	1/23/6	3/48/10
Datoer	15/16/0	13/17/0	28/33/0
Planlagte oppgaver	19/12/0	17/13/0	36/25/0
Hendelser for noen dager siden	21/10/0	17/13/0	38/23/0
Hendelser for flere år siden	12/19/0	13/16/1	25/35/1
Problemer med å holde tråden i samtaler	29/2/0	25/5/0	54/7/0

Vi ser av tabellen at de fleste deltakerne rapporterte en endring i hukommelsen fra tidligere. Nesten alle deltakerne hadde problemer med å huske navn (med unntak av tre personer), mens nesten ingen hadde problemer med å holde tråden i samtaler (7 personer rapporterte noen problemer med dette).

3.2 Eksperimentator effekter

Siden deltakerne var fordelt på to eksperimentatorer som gjennomførte både pre og posttest på samme person, var det ønskelig å se etter eksperimentatoreffekter. Fordeling av antall personer mellom de to eksperimentatorene vises i Tabell 4.

Tabell 4 – Fordeling mellom de to eksperimentatorene, antall personer

	Eksperimentator 1	Eksperimentator 2	Total
Eksperimentgruppe	16	15	31
Kontrollgruppe	16	14	30
Total	32	29	61

Til tross for at en ikke skulle forvente noe eksperimentator effekt (eksperimentatorene visste ikke hvilke forsøkspersoner som var i hvilken gruppe og det ble brukt ”objektive” mål), viste en variansanalyse (ANOVA) en signifikant eksperimentator x gruppe interaksjon for ett av endringsmålene; PAL Total errors 6 shapes ($F[1,57]=4.22, p=.045, \eta^2=.069$). Dette kan imidlertid også skyldes baseline forskjeller mellom gruppen som testes av eksperimentator 1 og gruppen som testes av eksperimentator 2.

For å undersøke eventuelle baseline forskjeller ble det utført en variansanalyse (ANOVA). Denne viste ingen signifikante forskjeller mellom gruppene, slik at det kan antas at personene som testes av eksperimentator 1 og personene som testes av eksperimentator 2 i utgangspunktet var like.

3.3 Hovedmål

Det ble ikke påvist noen statistisk signifikante forskjeller mellom eksperiment og kontrollgruppen for noen av utfallsmålene (t-test for uavhengige grupper). Gjennomsnitt med standardavvik er presentert for hver av gruppene sammen med p-verdier for sammenlikningen i Tabell 5.

Tabell 5: Resultater for utfallsmål (differanser post-pre)

	Eksperimentgruppe Gjennomsnitt (SD)	Kontrollgruppe Gjennomsnitt (SD)	p
CANTAB			
DMS (delayed matching to sample)			
Total correct all delays	-0.39 (2.17)	0.00 (1.7)	0.44
Total correct 4000 ms delay	0.10 (1.22)	0.17 (1.46)	0.84
Mean correct latency all delays	127.87 (962.99)	-100.36 (1043.38)	0.38
PAL (paired associates learning)			
First trail memory score	-0.68 (4.04)	0.33 (3.50)	0.30
Mean trials to success	0.32 (0.96)	-0.002 (0.79)	0.15
Total errors (adjusted)	7.58 (18.36)	4.90 (12.48)	0.51
Total errors 6 shapes	-1.39 (6.44)	-0.10 (6.14)	0.43
Total errors 8 shapes	9.23 (14.53)	6.3 (10.55)	0.37
PRM (Pattern recognition memory)			
Number correct	0.87 (2.54)	0.20 (2.78)	0.33
Mean latency	-157.85 (870.70)	-167.62 (433.62)	0.98
SRM (spatial recognition memory)			
Number correct	0.65 (3.68)	0.33 (3.02)	0.72
Mean latency	-41.80 (530.60)	-195.35 (480.58)	0.24
GROOVED PEGBOARD			
Tid høyre	-3.83 (18.87)	-2.12 (5.46)	0.64
Tid venstre	-0.08 (21.18)	-4.48 (14.07)	0.35

Selv om undersøkelser av fordelingen ikke indikerte noe problem, var utvalget såpass lite at det var ønskelig å etterprøve resultatene med en ikke-parametrisk test (Mann Whitney U-test). Dette fordi gjennomsnittet lett påvirkes i små grupper, og det er muligheter for at tilfeldig avvikende observasjoner har påvirket resultatet. Konklusjonen fra Mann Whitney U-tester var de samme som ved bruk av t-test.

I tillegg ble logaritmetransformerte scorer undersøkt. T-tester utført på disse transformerte scorene viste heller ingen signifikante forskjeller. En alternativ fremgangsmåte for analyse av et slikt design ville være å analysere resultatene ved en kovariansanalyse (ANCOVA) med posttestskåre som avhengig variabel, gruppe som en uavhengig faktor og pretestskåre som

kovariat. Slike analyser ble gjennomført for alle utfallsmål. Heller ikke disse analysene viste noen statistisk signifikante effekter av intervensjonen (gruppe).

Korrelasjoner

Det er tenkelig at alder, alvorlighetsgrad av problemer (målt som antall år problemer med hukommelsen) og generelt evnenivå (målt som antall år utdanning) vil ha en effekt på læring og hukommelsesmålene benyttet i studien. Særlig antall år utdanning har blitt vist å ha en sterk effekt på mange mål. Det var derfor ønskelig å undersøke korrelasjonen mellom disse variablene og utfallsmålene.

Forholdet mellom alder, år utdanning, år i arbeid og antall år problemer og de forskjellige utfallsmålene ble undersøkt ved hjelp av Pearsons korrelasjon, og de signifikante korrelasjonene oppgis i det følgende.

Alder korrelerte ikke signifikant med noen av målene.

Antall år utdanning korrelerte moderat negativt med PAL Total errors 8 shapes ($r = -.367$, $p = .004$).

Antall år problemer korrelerte moderat negativt med DMS Total correct all delays ($r = -.368$, $p = .013$, samt moderat positivt DMS Total correct 4000 ms delay ($r = .392$, $p = .008$).

Kontroll for alder, antall år problemer og antall år utdanning

På grunn av noe manglende informasjon, blant annet i forhold til antall år problemer, ble disse tre variablene (alder, antall år i utdanning og antall år problemer) kontrollert for enkeltvis, ved hjelp av en partiell korrelasjonsanalyse, der disse variablene ble holdt konstant. Kontroll for disse variablene førte ikke til signifikante forskjeller mellom gruppene.

Interaksjonseffekter

Sammenhengen mellom antioksidanter og kognitive funksjoner hos mennesker kan tenkes å være mer kompliserte enn umiddelbart antatt. En kan for eksempel ut fra en kognitiv reservehypotese anta at effekten av en slik intervensjon er muligens avhengig av alder, generelt evnenivå og/eller fremskredenhetsgrad av hukommelsesproblemene. Dette, sammen med manglende funn av effekt gjorde det ønskelig å se etter eventuelle interaksjonseffekter mellom de forskjellige utfallsmålene og disse variablene.

En variansanalyse (ANCOVA) viste en signifikant gruppe x antall år utdanning interaksjon for testen PAL, på flere av endringsmålene (differansen post-pre):

First trial memory score ($F[1,54]=13.72, p=.001, \eta^2=.20$)

Total errors 8 shapes ($F[1,54]=6.05, p=.017, \eta^2=.10$)

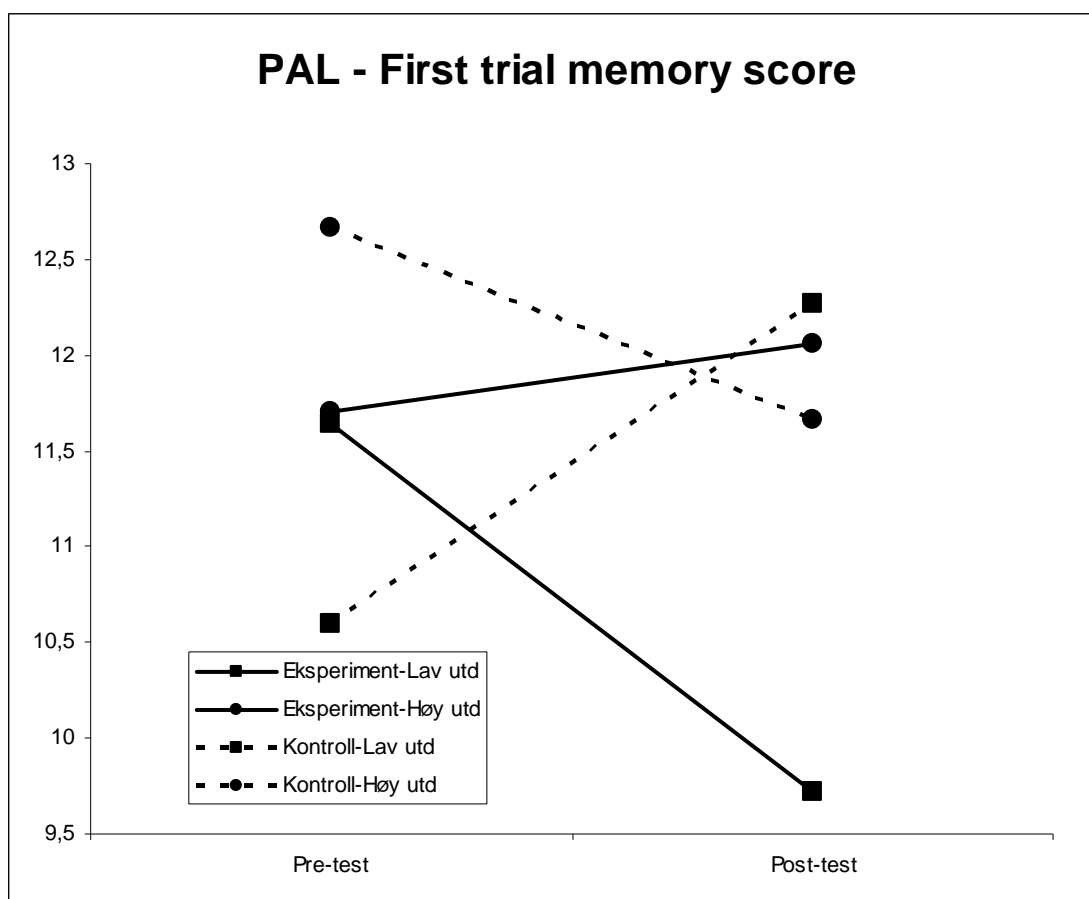
Mean trials to success ($F[1,54]=9.60, p=.003, \eta^2=.15$)

Total errors adjusted ($F[1,54]=6.02, p=.017, \eta^2=.10$)

Verken for PAL Total errors 6 shapes, eller for noen av de andre testene, ble det funnet statistisk signifikante interaksjonseffekter.

Ved nærmere gjennomgang viste interaksjonsmønsteret for de ulike testmålene å være forskjellige, og representerer således lite tolkbare resultater og ”pussige” enkeltfunn. Siden dette er et pilotstudium og feltet er nytt, velger vi å presentere en slik underlig tendens i materialet. Mønsteret i resultatene er vist i Figur 1 og 2. I fremstillingen er der skilt mellom høy og lav utdanning, basert på median verdier.

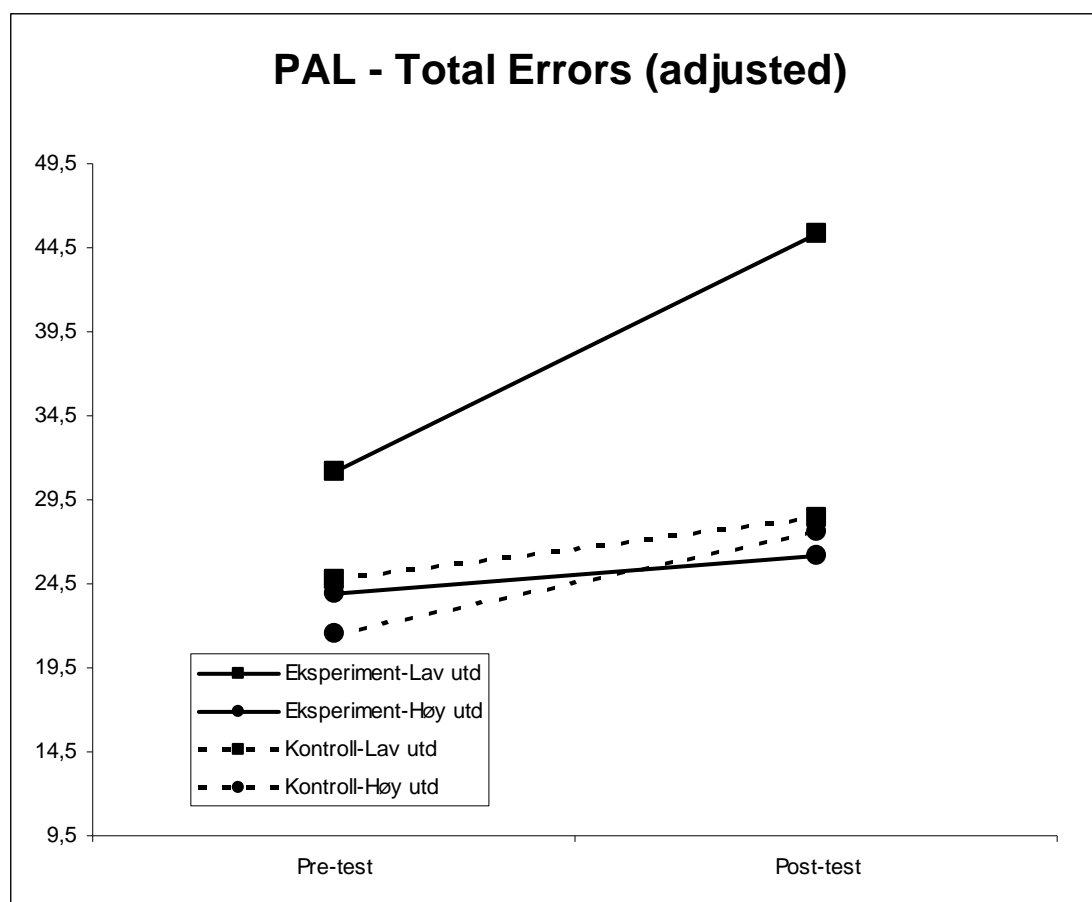
For First trial memory score (Figur 1) ser vi at personer med høy utdanning i kontrollgruppen gjør det dårligere, mens personene med lav utdanning gjør det bedre ved retest. Dette mønstret er motsatt for eksperimentgruppen, der personer med høy utdanning gjør det bedre, mens personene med lav utdanning gjør det dårligere.



Figur 1: Gruppe x Antall år utdannelse-interaksjon for PAL First trial memory score. Y-aksen angir gjennomsnittlig skåre (antall mønstre korrekt plassert på første forsøk).

For Mean trials to success ligger alle forsøkspersonene, uansett gruppe og utdannelse, i gjennomsnitt noe høyere (trenger flere forsøk på å få på plass alle mønstrene) ved retest, med unntak av personer med lav utdannelse i kontrollgruppen, som forholder seg så godt som konstant over de to testsituasjonene.

Total errors (adjusted) og Total errors 8 shapes viser omtrent samme mønster (Figur 2), hvor alle gruppene gjennomsnittlig sett ligger marginalt høyere (gjør flere antall feil) ved retest enn ved pretest, med unntak av personer med lav utdannelse i eksperimentgruppen som gjør merkbart flere feil ved retest. Personer med lav utdannelse gjør gjennomgående flere feil enn personer med høy utdannelse, og personene med lav utdannelse i eksperimentgruppen gjør det dårligst av alle både før og etter intervensjonen.



Figur 2: Gruppe x Antall år utdanning-interaksjon for PAL Total errors adjusted. Y-aksen angir gjennomsnittlig skåre (antall feil).

Slike statistisk signifikante funn kan imidlertid også skyldes tilfeldigheter (Type 1 feil) da man ved et 5% signifikansnivå tillater at man i 5% av tilfellene feilaktig forkaster nullhypotesen. Ved signifikante funn er det i tillegg viktig å undersøke om mønsteret er gjennomgående, noe som i dette tilfelle ikke stemmer.

3.4 Biologisk respons – Creatine Kinase (CK)

En rekke parametere ble målt i blodprøvene fra forsøkspersonene. Statistiske sammenlikninger mellom gruppene på disse målene (gjort av Siv Kjølrsrud Bøhn i prof Rune Blomhoffs forskningsgruppe ved Avdeling for Ernæringsforskning, UIO) viste at ingen av parametrene ble endret signifikant i eksperimentgruppen i forhold til kontrollgruppen med unntak av serum-CK. På dette målet hadde eksperimentgruppen en signifikant nedgang i CK-

nivå i forhold til kontrollgruppen ($p=0.047$, MW-test). Bøhn fant også at ved å analysere forsøkspersonene mht utgangsnivå av CK, hadde forsøkspersonene med høye nivåer av CK (score over median) før intervensjonen startet, størst effekt av intervensjonen.

Muligens definerer dette målet to grupper av respondere/ikke-respondere, slik at personer som ligger over median i utgangspunktet har større potensiale for endring, og derfor også kanskje vil utvise en sterkere effekt på mål på hukommelse og motorikk (S.K. Bøhn, Personlig kommunikasjon, 07.04.08).

Vi utførte en variansanalyse (ANOVA) for å kontrollere for utgangsnivå av CK på de nevropsykologiske målene (over versus under median). Dette gav imidlertid ingen signifikante effekter.

4. 0 Diskusjon

Målet med denne pilotstudien var å undersøke effekten av blåbær på eldre menneskers kognisjon og finmotorikk. Et sentralt tilleggsmål var avklaring av metodeproblemer og relevans for fremtidige studier.

Trolig er den viktigste styrken ved denne studien det randomiserte dobbelblind designet. Dette designet utgjør et viktig skritt videre i forskningen på feltet, som har vært dominert av kontrollerte dyrestudier eller ukontrollerte epidemiologiske studier. Selv om effekten av enkelte matvarer rike på antioksidanter har blitt belyst, har effekten av blåbær aldri tidligere vært testet hos i et godt kontrollert eksperiment.

4.1 Hovedfunn

Hovedfunnet i studien er at en intervensjon med blåbær ikke har noen klare effekter på hukommelse og finmotorikk. Vi fant ikke signifikante forskjeller på de nevropsykologiske målene mellom eksperiment- og kontrollgruppen. Vi kunne således ikke påvise de sterke og entydige funnene fra dyrelitteraturen. Dette særlig i forhold til forbedring og reversering av aldersrelaterte svekkelser i nevronal, kognitiv og motorisk funksjon (Joseph et al, 1999).

Ut fra hovedfunnene tyder det ikke på at blåbær har en effekt på menneskers hukommelse og finmotorikk. En kan likevel tenke seg at sammenhengen mellom antioksidanter og kognitive funksjoner er mer komplisert. Eventuelt kan effekten av en slik intervensjon være avhengig av variabler som alder, evnenivå eller fremskredenhets av kognitive svekkelser. Kontroll for disse variablene førte imidlertid ikke til endringer i de observerte effektene.

Ut fra en kognitiv reservehypotese (Stern, 2002) er det mulig å anta at en effekt av en slik intervensjon vil være avhengig av alder, fremskredenhets av kognitive svekkelser og kanskje særlig generelt evnenivå (målt som antall år utdannelse). Signifikante interaksjonseffekter ble funnet mellom generelt evnenivå og mål fra testen PAL.

Spørsmålet i denne sammenhengen er om man i utgangspunktet kan forvente at personer med høyt evnenivå responderer annerledes på inntak av blåbærjuice enn personer med lavere

evnenivå. Mulige hypoteser går i begge retninger; det er mulig at personer med høyt evnenivå vil ha større nevrale nettverk og derfor ha større nytte av en slik intervensjon. Imidlertid kan det være at personer med lavere evnenivå og følgelig mindre nevrale nettverk, vil få en styrkende effekt på de nettverkene de har, og derfor prestere bedre på testene etter intervensjon enn ved baseline.

Interaksjonene vi fant var ikke konsistente mellom de forskjellige målene innenfor samme test, og er derfor vanskelige å tolke. Blant annet ser det ut som om personer med lav utdanning i blåbærgruppen gjør det dårligere enn personer med lav utdanning i kontrollgruppen ved retest på PAL First trial memory score. Skulle man tatt dette resultatet bokstavelig, ser det ut som om intervensjonen virker ”fordummende” på personer med lav utdanning. Et annet mønster finner vi ved PAL Total errors og PAL Total errors 8 shapes, hvor alle gjør det dårligere ved retest. Personer med lav utdanning i eksperimentgruppen har en større forverring enn de andre gruppene. Så vidt vi kan se, kan ikke disse interaksjonseffektene forklares med noen tilgjengelige teorier.

Imidlertid er det mulig at disse effektene kan skyldes faktorer som er utenfor vår kontroll. Siden utvalget er lite, kan eksempelvis forstyrrende faktorer hos enkelte personer påvirke resultatene og gi slike ”merkelige” funn. Slike faktorer kan for eksempel være variasjoner i opplagthet i forhold til hvilken tid på døgnet testingen foregikk eller utslag av ulike sykdommer.

En annen mulighet er at motivasjon spiller en rolle. For eksempel kan man tenke at forsøkspersonene var mer motiverte ved baseline enn ved retest. En vil da også kunne tenke seg at personer som gjør det dårligst ved baseline vil ha lavere motivasjon ved retest. Dette kan for eksempel skyldes en følelse av manglende mestring. Dette stemmer overens med interaksjonsmønsteret for Total errors og Total errors 8 shapes, men ikke med First trial memory score. På den andre siden er det også mulig å forvente en læringseffekt. Dette innebærer at personer som gjør det dårlig ved baseline har et større forbedringspotensiale enn personer som gjør det bra allerede ved første testing. Dette er antagelser uten mulighet for endelig avklaring i denne studien.

Creatine Kinase (CK)

Analyser av bloddata viste kun signifikante effekter av blåbær på nivå av CK. CK er et enzym som katalyserer en energi-skapende reaksjon i vev som forbruker energi veldig raskt. Normalt finnes dette stoffet ikke i høye konsentrasjoner i blodet. Forhøyete blodverdier av CK tyder på at vev er skadet slik at CK lekker ut i blodet. CK blir derfor ofte brukt som en markør for hjerteinfarkt, muskelskade og akutt nyresvikt (S.K. Bøhn, personlig kommunikasjon, 07.04.08).

En fant en signifikant reduksjon i CK i eksperimentgruppen hos personene med de høyeste nivåene av dette stoffet i utgangspunktet. Nedgangen kan tyde på at evnen til reparasjon har blitt bedre og at virkestoffene i blåbær beskytter mot vevsskade. En skal imidlertid være forsiktig med å trekke slike effektslutninger, da det er mulig å tenke seg at personer som er ”dårligst” i utgangspunktet har størst endringspotensiale. Det vil si at de har mulighet for en større effekt. I tillegg vil muligens tilfeldige målefeil gjøre at noen personer slår høyt ut ved første blodprøve. Regresjon mot gjennomsnittet vil da spille inn, slik at disse naturlig vil falle i verdi uavhengig av intervensjon.

En kan likevel tenke seg at personer med et høyt utgangsnivå av CK (og størst effekt av intervensjonen på dette målet) i større grad responderer på intervensjonen, slik at personer med høyt nivå av CK vil gjøre det bedre på de nevropsykologiske målene ved retest enn personer med lavt nivå. For å undersøke en slik effekt ville man forventet utfall på latens-mål og Grooved Pegboard, siden disse vil være sensitive for muskelskade.

Det ble utført en variansanalyse (ANOVA) på effekt av CK på de nevropsykologiske testmålene. Det ble ikke funnet noen signifikante interaksjonseffekter.

En endring i CK (mediert av intervensjonen) synes altså ikke å ha noen effekt på kognitiv/motorisk funksjon.

4.2 Tolkninger

Hovedslutningen en kan trekke fra denne studien er at blåbær ikke synes å ha noen effekt på menneskers hukommelse og finmotorikk. Studien søkte imidlertid å finne en effekt av en intervensjon med blåbær/druejuice i 9 uker, i et relativt lite utvalg. Det kan derfor stilles spørsmålsteget ved om en eventuell effekt i det hele tatt vil la seg oppdage under slike betingelser.

Store epidemiologiske studier har funnet en effekt av antioksidanter på eldre menneskers hukommelse. For eksempel fant Morris et al. (2002) at et høyt inntak av E-vitamin gjennom kostholdet virket like beskyttende i forhold til nedgang i prestasjon som inntak av kosttilskudd. Imidlertid kan man ikke utelukke at slike effekter som også andre epidemiologiske studier har funnet, skyldes en rekke andre faktorer. For eksempel kan egenskaper ved det å ha et sunt kosthold generelt spille inn. Dette gjør at slike funn ikke uten videre kan generaliseres. På tross av et stort antall personer i slike studier, er det liten kontroll over ulike faktorer og virkemekanismer. I dette henseende går den aktuelle studien i motsatt retning; et lite antall forsøkspersoner, men til gjengjeld en sterk kontroll over ulike faktorer. I tillegg styrkes funnene våre ytterligere av designet med en eksperimentgruppe og en kontrollgruppe.

Noen få placebokontrollerte studier har funnet en effekt av antioksidantinnholdige matvarer (for eksempel ginkgo biloba) på menneskers hukommelse og finmotorikk (Elsabagh, Hartley, Ali, Williamson & File, 2005). Metodeforskjeller og forskjeller i virkestoffer gjør det imidlertid vanskelig å relatere disse funnene direkte til det aktuelle studiet.

Dyrestudier har vist en markert positiv effekt av blåbærekstrakter på hukommelsesfunksjoner og motorikk hos rotter (Bickford et al., 2000; Joseph et al., 1999). Effekten gjelder både en reduksjon og en reversering av aldringseffekt på kognitive/motoriske mål. I en oversiktsartikkel (Joseph, Shukitt-Hale & Lau, 2007) finner forfatterne et sterkt empirisk grunnlag for positiv effekt av blåbær og andre antioksidantsrike matvarer på et bredt spekter av nevronale mekanismer av relevans for motorikk, læring og hukommelse.

Likheter i underliggende nevronale mekanismer mellom forsøksdyr og mennesker gjør resultatene relevante, og de kan tale som et argument for utprøving av effekten av virkestoffet på motorikk og hukommelse også hos mennesker. Imidlertid er det vesentlige forskjeller mellom rotter og mennesker, noe som kan gjøre en slik generalisering mindre optimal. For eksempel er ”oversettelsen” av dose fra rotter til mennesker vanskelig, slik at det er mulig rottene får et større inntak i forhold til kroppsvekt enn det som vil være mulig hos mennesker. En kan kanskje tenke seg at det skal mer til for å endre nevrologiske og kognitive funksjoner hos mennesker enn hos dyr, og muligens kan ikke denne effekten overføres fra rotter til mennesker.

Enkelte studier peker i retning av at ulike antioksidanter eller antioksidantinnholdige matvarer kan ha sterkere effekt på bestemte funksjonsområder enn andre. Blant annet er det mye som tyder på at antocynidene er særlig gunstige for å forbedre syn (Zafra-Stone et al., 2007). En gjennomgangsartikkel av litteraturen rundt effekten av blåbær og andre liknende matvarer på rotters prestasjoner, peker på at blåbær synes å være blant de få plantene som er effektive for å reversere motoriske svekkelser (Joseph, Shukitt-Hale, Casadesus & Fisher, 2005). I en dyrestudie (Shukitt-Hale et al., 2007) fant man at blåbær synes å ha størst effekt på funksjoner knyttet til striatum, slik som reversert læring og motorisk prestasjon. Jordbær syntes å ha en forbedrende effekt på funksjoner knyttet til hippocampus.

Hvis dette skulle stemme også for mennesker, er det mulig at tester sterkt knyttet til hukommelse, læring og andre funksjoner nært forbundet med hippocampal fungering ikke vil vise de potensielle effektene av blåbær. Slike effekter vil imidlertid muligens kunne fanges opp av tester nærere knyttet til striatal funksjon, som motorisk prestasjon og spatial orientering. I så måte vil dette kunne ha implikasjoner for lidelser med innslag av sterke motoriske svekkelser, slik som Parkinsons lidelse. Den eneste testen i den aktuelle studien knyttet til motorisk funksjon var Grooved Pegboard, og det ble ikke funnet noen effekter på denne. Dette bør undersøkes nærmere ved oppfølgingsstudier.

Som nevnt er denne pilotstudien første gangen en undersøker effekten av blåbær på hukommelse hos mennesker. Det har derfor vært vanskelig å vurdere hva som skal til for å vise en eventuell eksisterende effekt. En mulig forklaring på den manglende effekten av intervensjonen i denne studien er at blåbær ikke har effekt på hukommelse og finmotorikk hos mennesker. Det er imidlertid også mulig at variabler knyttet til design, utvalg og metoder skygger for en slik effekt. En spesielt viktig problemstilling er om effekten av en slik

intervensjon er såpass sterk at den vil la seg oppdage over et slikt tidsrom og dose (6,6 dl juice daglig over 9 uker) med så lite utvalg som i denne studien.

4.3 Metodologiske utfordringer

Størrelse på utvalget

En av de vesentligste svakhetene ved dette studiet er den begrensede størrelsen på utvalget. Et lite utvalg er en av faktorene som generelt gjør sannsynligheten for feilslutninger større. Det er mulig at utvalget er for lite til at man kan oppdage faktiske effekter, slik at nullhypotesen (at det ikke er noen slike effekter) beholdes. På den andre siden har liknende studier på effekt av ernæringstilskudd en stor variasjon i antall personer i utvalget. Enkelte av disse studiene har fått signifikante funn selv ved utvalg av tilsvarende størrelse. Uansett ville et større utvalg uten tvil vært en stor fordel. Det ville særlig lettet generaliseringen av funnene, samt gjort disse mer robuste.

Dosering

Et viktig spørsmål er om en kan forvente å se en effekt ved en tilføring av 6,6 dl blåbær/druejuice i 9 uker. Denne dosen representerer i utgangspunktet en ganske vanlig mengde juice, og den tilfører kanskje heller ikke i særlig grad noe nytt til vanlige menneskers kosthold. Samtidig er det vanskelig å forvente at forsøkspersonene skulle drikke mer enn 6,6 dl daglig. Dersom man antar at effekten av en slik juice hovedsakelig ligger i den antioksidative effekten, er antioksidantinnholdet ikke spesielt høyt sammenliknet med hele blåbær, rødvin eller enkelte kosttilskudd (For tabell over antioksidantinnhold i ulike matvarer se Blomhoff, 2004). Imidlertid er det foreslått at effekten av blåbær går ut over den antioksidative effekten, noe som likevel gjør en slik intervensjon relevant. Siden dette er et pilotstudium, og effekten av blåbær ikke har vært testet på mennesker, er det uansett vanskelig å si noe om dose.

Varighet av intervensjon

Forskning på ernæringstilskudd varierer i hvor lenge forsøkspersonene tar preparatet, men ni uker er ikke nevneverdig kort i forhold til mye litteratur på effekt av næringsmidler (S.K. Bøhn, personlig kommunikasjon, 19.03.08). Med basis i slike studier kunne en forvente en effekt innen dette tidsrommet. På den andre siden kan man tenke seg at en slik intervensjon

med et produkt som alt er en naturlig del av menneskers diett vil kreve lengre tid på å sette i gang endringene i kroppen, kanskje særlig i et eldre utvalg.

I de fleste epidemiologiske studiene blir personene fulgt over mange år. Dai et al. (2006) viste for eksempel at personer som drakk mye juice over flere år hadde minsket innsidens for AD. Dette kan tyde på at mer langvarig bruk av antioksidantrike produkt har en effekt. Dette understøtter også antagelsen om at en slik intervensjon med juice vil kreve mer enn 9 uker for å kunne observere endringer i kognitive mål. En kan også tenke seg at det er den forebyggende effekten gjennom et langt liv som er viktigst og at en slik supplementering må startes tidlig, og vare over lengre tid for å være effektiv.

Et motargument til dette er imidlertid mulig utvikling av toleranse. Selv om det så langt ikke er noe som tyder på at dette gjelder for blåbær, postulerte Elsabagh et al. (2005) en hypotese om utvikling av toleranse ved kronisk inntak av ginkgo biloba, da de fant en effekt av akutt inntak, men ikke av inntak over lengre tid. Det er på det nåværende tidspunkt umulig å avgjøre om dette kan tenkes å gjelde for blåbær, eller om resultatene til Elsabagh et al. (2005) skyldes tilfeldigheter. Dyrelitteraturen, samt epidemiologiske studier synes å avkrefte hypotesen, men det trengs mer forskning til for å eventuelt styrke eller svekke denne muligheten. En interessant måte å kontrollere for dette, kunne være å studere effekten av inntak på de nevropsykologiske målene, umiddelbart etter første inntak, i tillegg til effekten etter ett kort (9 uker) og et lengre (6 måneder) tidsrom.

Alder

Personene i utvalget var eldre menn i alderen 67-77 år. Det er vist en rekke endringer i hjernen med økende alder, blant annet minket volum, omorganisering, økning i amyloid plakk, nevrofibrillære floker og nevronal celledød (Knopman et al., 2003; Raz et al., 2005; Jones et al., 2006). Forstyrrelser i hukommelsen kan således være tidlige tegn på slike endringer. Selv om man kan argumentere for at aldergruppen 67-77 år er forholdsvis ”unge gamle”, kan det tenkes at de kognitive problemene man ser, er et uttrykk for endepunktet på en livslang prosess. En kan tenke seg muligheten for at når endringene i hukommelse først inntreffer er allerede mange systemer begynt å forfalle, slik at en reversering kan vise seg å være vanskelig, mens det muligens ligger et større potensiale i å forebygge eller saktne ned denne degenerasjonen.

Selv om personene i utvalget kanskje ikke har langtgående og irreversible dysfunksjoner og dessuten ble vurdert som ikke-demente, er det likevel mulig å tenke seg at en viss skade allerede er skjedd. Statistisk sett øker sannsynligheten for nevrodegenerative lidelser med alder, slik at prodromal demens eller MCI ikke kan utelukkes. Muligens ville effektene av intervensjonen vært sterkere dersom en hadde studert en noe yngre gruppe. I tillegg kunne det vært spennende å velge ut personer i samme aldersgruppe, men uten særlige manifesteringer av hukommelsesproblemer.

Grad av kognitiv svekkelse

Det er noe uklart hvordan personene i utvalget best karakteriseres: Er utvalget representativt for normale aldersrelaterte hukommelsesendringer eller har personene et funksjonsnivå som er nærmere MCI?

Forsøkspersonene i studien oppgir å ha en opplevelse av en hukommelsesreduksjon, men litteratur på feltet peker på subjektiv hukommelsesreduksjon som et ustabil mål på faktisk hukommelse. Mye tyder dessuten på at dette målet ofte er påvirket av flere andre faktorer, slik som depresjon og personlighetstrekk (Reid & MacLulich, 2006). Personene i utvalget ble imidlertid screenet for depresjon, og det har blitt funnet indikasjoner på at subjektiv hukommelsesreduksjon er mer reliabel for faktisk hukommelsesfunksjon hos personer uten depresjon (Kim et al., 2006).

Legger man Mayo klinikkens definisjon av MCI til grunn, oppfyller forsøkspersonene kriteriet om opplevd hukommelsesreduksjon. Denne opplevde reduksjonen er imidlertid ikke blitt bekreftet gjennom vurdering av pårørende i denne studien. En slik informantvurdering kunne vært nyttig, da slik tilleggsinformasjon i litteraturen blir sett på som reliabel i forhold til faktisk utførelse på nevropsykologiske tester (Archer et al., 2007).

Videre skal personer med MCI ha en påvist hukommelsesreduksjon ved nevropsykologisk testing, men ingen utfall på andre kognitive områder. Dette ble heller ikke undersøkt. Et problem i dette henseende er at normutvalget til de brukte CANTAB-testene er svært små, samt at norske normer ikke eksisterer. Dette gjør det vanskelig å si noe generelt om hukommelsesfunksjon i utvalget ved start.

En MCI diagnose krever også normal fungering i dagliglivet og fravær av demens (Petersen et al., 2001). Vi har all grunn til å tro at utvalget kvalifiserer til kriteriet om normal fungering i dagliglivet. Det kunne likevel vært nyttig å benytte et screeningsverktøy i forhold til daglig fungering ved baseline, som for eksempel Activities of Daily Living (ADL). Utvalget kvalifiserte heller ikke for demens, vurdert ved hjelp av MMSE ved baseline. MMSE er et nyttig verktøy i forhold til å avdekke mistanke om demens, men det er diskutert om den er sensitiv nok til å avdekke demens i tidlig stadier, særlig hos personer med høy utdannelse (Aevarsson & Skoog, 2000).

Valg av tester

I studien ble det benyttet visuelle hukommelsestester, med tillegg av en finmotorisk test (Grooved pegboard). Disse ble valgt ut fordi en tenker at de gjenspeiler noen av de samme funksjonene som er testet i rotteforsøk. Ved økende alder finner man et fall på flere hukommelsesmål. Problemløsningsevner endres tidlig (Haugen & Nygård, 2003), noe testene fra CANTAB virker å være mål på. Testene fra CANTAB er mye brukte, og synes å ha god validitet og reliabilitet (Cambridge Cognition, 2006; Fray, Robbins & Sahakian, 1996). Imidlertid har enkelte studier funnet indikasjoner på dårlig test-retest reliabilitet (Lowe & Rabbit, 1998). Lowe og Rabbit (1998) fant læringseffekter på enkelte tester, samt test-retest korrelasjoner forfatterne mener er uakseptabelt lave, særlig i forskningssammenheng.

Testene er også brukt mest som diagnostiske verktøy for tidlig avdekking av demens. Blackwell et al. (2004) fant for eksempel sterke indikasjoner på at PAL har prediktiv verdi i forhold til tidlig diagnostisering av Alzheimers sykdom. De fant at denne visuospatiale læringstesten sammen med en semantisk læringstest (Graded Naming Test) predikerte med 100% sannsynlighet hvem som ville utvikle Alzheimers sykdom av en gruppe forsøkspersoner med mulig demens (Blackwell, Vesey, Semple, Robbins & Hodges, 2004). Égerházi et al. (2007) fant dessuten redusert utførelse på PAL både hos forsøkspersoner med MCI og AD. Forfatterne foreslår at redusert utførelse på PAL kan fungere som en markør for preklinisk AD, og dermed et nyttig mål for å avdekke AD (Égerházi, Berecz, Bartók & Degrell, 2007).

Det kan tenkes at testene fra CANTAB batteriet kanskje er mer sensitive for avdekking av hukommelsesproblemer enn de er til å oppdage små forskjeller i eksperimentelle sammenhenger. Det eneste målet som av CANTAB fremheves som å være egnet i en slik

sammenheng er PAL Total errors 8 shapes. Målet antas å være et egnet mål på hukommelse og ny læring hos normalfungerende personer, og nyttig for å unngå takeffekter (Cambridge Cognition, 2006).

Samtidig er det også mulig at PAL eller CANTAB testene generelt er spesielt sårbare for effekten av intellektuelt nivå (utdannelse). En faktoranalyse av CANTABs tester (Robbins et al., 1994), viste at når alder og intelligensmål ble inkludert i analysen, vektet disse variablene sterkest på hukommelse, læring, og responstid.

Manglende effekter på noen av målene kan også tenkes å skyldes en manglende test-sensitivitet. Mye tyder på at for eksempel problemer med objektgjenkjenningsoppgaver kan bli maskert ved for kort tidsmellomrom mellom innlæring og gjenkalling (Goyarzu et al., 2004). I objektgjenkjenningsoppgaven brukt i denne studien, PRM, ble mønstrene presentert umiddelbart etter innlæringsfasen, noe som kan gjøre forbedringspotensialet lite, og maskere vanskeligheter som kanskje ville vært tydeligere med et lengre tidsopphold. Sammenlignet med CANTABs aldersnormer ser det imidlertid ikke ut som om det på gruppenivå er vesentlige tak-effekter i utvalget.

Testsituasjon

Halvveis i testperioden ble det nødvendig å skifte testrom. En rekke litteratur påpeker romskifte som en forstyrrende variabel i test-retest situasjoner (Isarida, 2005) da det er vist at man blant annet husker materialet bedre når man blir testet i samme rom som man lærte materialet i. Det kan innvendes at det ble foretatt parallelle versjoner av testene, så forsøkspersonene trengte ikke aktivt prøve å huske noe fra forrige test. Likevel kan informasjon om for eksempel instruksjoner blitt noe dårligere. Dette ble imidlertid kontrollert for ved variansanalyse (ANOVA), og synes ikke å ha noen effekt.

4.4 Styrker ved studiet

Design

Kanskje den største styrken ved studien er designet. I og med at personene fordeles blindt på en kontrollgruppe og en eksperimentgruppe, og testes før og etter intervensjon oppnås en sterk kontroll, samt reduksjon av feil. For eksempel vil resultatene i mindre grad være

påvirket av observerer bias. Dette støttes videre av at også all analysering av data ble gjort blindt.

Utvalg

Forsøkspersonene var friske, motiverte, lette å samarbeide med, samt var flinke til å drikke juicen kontinuerlig, dette til tross for at noen opplevde magebesvær de første ukene intervensjonen. Det var lite frafall, og forsøkspersonene ble fulgt opp telefonisk annen hver uke gjennom hele intervensjonsperioden for motivasjonsformål.

Instrumenter og testsituasjon

Forsøkspersonene ble før inntak vurdert med hensyn til depresjon og kognitiv svikt/demens, noe som sammen med et begrenset aldersspenn (10 år). Disse faktorene, sammen med kjønn, gjorde utvalget relativt homogent på disse målene. Begge benyttede kliniske instrumenter, MADRS og MMSE har vist seg å være sensitive for avdekking av henholdsvis depresjon og demens (Almeida & Almeida, 1999; Montgomery & Åsberg, 1979; Petersen et al., 2001).

CANTAB er et validert og mye brukt verktøy, og har i andre studier vist sensitivitet til tidlige hukommelsesendringer, og i noen tilfeller endringer som følge av ernæringstilskudd eller medisiner (Elsabagh, Hartley, Ali, Williamson & File, 2005; Rabbitt & Lowe, 1999; Sahakian et al., 1993).

Læringseffekter/tilvenningseffekter ble forsøkt eliminert ved en tilvenningsfase, der personene gjennomførte testene en gang, 2-3 uker før baseline testing. CANTAB sikrer i tillegg stabilitet og likhet i testsituasjonen for alle personer, alle gangene, i og med at testene gjennomføres på PC, slik at feil eller forskjeller i for eksempel administrering elimineres. I tillegg ble parallelle versjoner av testene benyttet, slik at læringseffekter elimineres ytterligere.

Kontroll over faktorer av mulig betydning

Det ble i denne studien generelt lagt stor vekt på å kontrollere for en rekke faktorer som kan tenkes å ha en betydning for utfallet (for eksempel utdanning og arbeid), men også kosthold, alkoholkonsum, medisinbruk og annet. Et kostholdsskjema med spørsmål om matvaner, og annen helseadferd ble benyttet. For å kontrollere for at deltagerne inntok intervensjonsproduktet, ble de bedt om å krysse av for hver inntatt juicedose. Bearbeidingen av

kostholdsskjemaene var ikke klare da oppgaven ble levert, slik at en analyse av betydningen av forskjeller i helseatferd og antioksidantinntak for respons på intervensjonen ikke kunne gjøres.

En kan imidlertid eksempelvis tenke seg at personer med interesse for en sunn livsstil vil være mer tilbøyelige til å melde seg på en slik studie. Samtidig vil disse personene kanskje selv ha en sunn livsstil og dermed muligens også et høyere inntak av antioksidantrike matvarer, som frukt og grønnsaker og kosttilskudd. En mulig hypotese kan være at personer som har et lavt inntak av antioksidanter vil ha mer effekt av inntak av antioksidanter, mens personer med et høyt inntak av frukt, bær, grønnsaker og liknende vil ha nådd et taknivå, eller være for ”mettet” til at en effekt av en slik tilføringsdose av blåbær, vil kunne gi noen effekt. Det samme gjelder eksempelvis alkoholkonsum; Samtidig som at personer med høyt alkoholkonsum ofte har mindre positiv helseatferd, så vet en at noen alkoholholdige drikker som vin er antioksidantrike. Årsakssammenhengen mellom respondering på blåbærjuice vil da være komplisert å predikere.

4.5 Fremtidig forskning

Flere studier må til for å kunne si noe om blåbær/antioksidanter har en effekt på kognitive mål, og eventuelt hva en slik effekt går ut på. Mange spørsmål er fortsatt ubesvarte, men denne pilotstudien gir et godt utgangspunkt for framtidige studier, og også en pekepinn om mulige endringer og utvidelser. I første omgang vil et større utvalg være den viktigste forbedringen. Som nevnt vil også en utvidelse av intervensjonstiden, samt flere målinger over denne, gi opplysninger om en eventuell akutt effekt og toleranseutvikling. En undersøkelse av effekt hos ulike aldersgrupper vil gjøre at man i større grad vil kunne svare på om en slik supplementering best skal sees på i et langvarig forebyggingsperspektiv eller om en også kan reversere prosesser som allerede er i gang. Da kan man finne ut om kortvarige intervensjoner, eller intervensjoner satt inn sent også vil ha noe for seg. Finner man en effekt vil det også etter hvert være viktig å inkludere kvinner i slike studier.

Studien peker også på viktigheten av kontroll for en rekke faktorer, slik som personenes kosthold, helseadferd, sosiodemografiske variabler, blodprøvestatus, intelligensnivå og hukommelse. Sistnevnte burde være et uavhengig mål med en stor normpopulasjon, og si noe om generelt hukommelsesnivå. Dersom studiepopulasjonen skal være normale eldre, vil en

screening for MCI, demens og depresjon være viktig. Innhenting av informasjon fra pårørende samt kartlegging av daglige aktiviteter vil gjøre disse diagnosene lettere å utelukke.

Koblingen mellom nevropsykologiske og biologiske mål åpner også for interessante aspekter. Viktige spørsmål omfatter om intervensjonen medfører endringer i blodprøve parametere, som også kan ha betydning for den enkelte persons fungering både fysisk og psykisk. Blodprøvene i denne studien vil dessuten også bli brukt til å undersøke gen-profiler, noe som åpner for muligheten til å se om personer med bestemte profiler i større grad vil profitte på en slik intervensjon. En undersøkelse av blodtrykk før og etter intervensjon vil også kunne være interessant, da høyt blodtrykk fører til slitasje på hjerte-karsystemet, og også er en risikofaktor for utvikling av blant annet AD.

En del jobb gjenstår i å avklare hvilke hukommelsesfunksjoner det er rimelig å anta en slik juiceintervensjon vil påvirke, og hvilke instrumenter som i tilfelle måler disse på best måte. Muligens kan det også være interessant å se videre enn hukommelse, kanskje vil en endring best sees på motoriske mål eller andre modaliteter. Videre utprøving av CANTAB synes å være en mulighet, og fordelene ligger i den PC-baserte administreringen. Det vil også være aktuelt å inkludere kjente nevropsykologiske tester som er vist å være sensitive.

4.6 Oppsummering av funn

Hovedmålet med studien var å undersøke om ekstrakt av blåbær har effekt for mål på hukommelse og finmotorikk hos mennesker. Ingen slike effekter ble imidlertid funnet. I tillegg ble det funnet lite tolkbare interaksjonseffekter mellom intervensjon og antall år utdanning.

4.7 Implikasjoner

Tidligere studier både har vist en sterk effekt av blåbær på hukommelse og motorikk hos dyr. Denne studien kunne ikke å replisere slike funn hos mennesker, og blåbærekstrakter synes ikke å ha noen effekt på hukommelse og finmotorikk. På bakgrunn av dette studiet kan ikke inntak av blåbær anbefales i forhold til forebygging eller behandling av hukommelsesproblemer. Dette har implikasjoner for markedsføring av blåbær juice og antioksidanter som kosttilskudd. Siden dette er et pilotstudium kan man imidlertid ikke trekke

noen sterke konklusjoner. Behovet for flere studier er klart til stede, der erfaringer fra dette arbeidet kan legges til grunn.

Studien peker også på viktigheten av kontroll over forstyrrende faktorer, og stiller spørsmålet om en slik effekt i det hele tatt kan forventes å bli funnet på et såpass kort tidsrom som 9 uker, med en dose på 6,6 dl juice daglig. Samtidig er det ikke usannsynlig at sammenhengen mellom blåbær/antioksidanter er mer sammensatt enn først antatt. Fremtidige studier bør nøye definere både studiepopulasjon, måleinstrumenter, varighet og dose/form på intervensjonsproduktet.

5.0 Konkluderende bemerkninger

Forbedringen i levekår, sykdomskontroll og teknologi har forlenget menneskets livsløp de siste hundre år. Det er anslått at om lag 25 % av populasjonen vil være 65 år eller eldre innen de neste 50 årene. Denne forlengede levetiden bringer med seg en økt forekomst av kognitive problemer forbundet med aldring; fra de milde og vanlige aldersrelaterte hukommelsesproblemene til demens og nevrodegenerative lidelser. Dette fører samtidig til behovet for forståelse og identifisering av mekanismer, modeller og intervensjoner for disse svekkelsene som kan tenkes å resultere i bevaringen av kognitive funksjoner gjennom hele livsløpet til et individ.

Behovet for flere kontrollerte intervensjonsstudier på dette feltet er klart til stede, og denne studien er et første skritt på veien. Kognitive aldersrelaterte svekkelser blir bare mer og mer vanlige i vår aldrende populasjon, og en eventuell behandling eller tilføring av naturlige stoffer som blåbær er en interessant mulighet som burde undersøkes nærmere. Eventuelle funn av en slik effekt vil åpne for en uhyre viktig, og lite skadelig måte å forebygge, og kanskje til og med saktne utviklingen av de kognitive og nevronale svekkelsene man ser med økende alder.

Både epidemiologiske studier samt studier med rotter og hunder har slått fast den positive effekten frukt og bær generelt og blåbær spesielt har på en rekke biologiske funksjoner. Denne effekten har i tillegg også vist seg i kognitive endringer, for eksempel bedret hukommelse og læring. Litteraturen på området er overbevisende, og implikasjonene så interessante at videre studier på mennesker bør bli gjennomført.

6.0 Referanser

- Aevarsson, Ó., & Skoog, I. (2000). A longitudinal population study of the Mini-Mental State Examination in the very old: Relation to dementia and education. *Dement Geriatr Cogn Disord*, 11, 166-175.
- Almeida, O. P., & Almeida, S. A. (1999). Short versions of the Geriatric Depression Scale: A study of their validity for the diagnosis of a major depressive episode according to ICD-10 and DSM-IV. *International Journal of Geriatric Psychiatry*, 14, 858-865.
- Ames, B. N., Shigenaga, M. K., & Hagen, T. M. (1993). Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90, 7915-7922.
- Andres-Lacueva, C., Shukitt-Hale, B., Galli, R. L., Jauregui, O., Lamuela-Raventos, R. M., & Joseph, J. A. (2005). Anthocyanins in aged blueberry-fed rats are found centrally and may enhance memory. *Nutritional Neuroscience*, 8, 111-120.
- Archer, H. A., McFarlane, F., Frost, C., Cutler, D., Fox, N. C., & Rossor, M. N. (2007). Symptoms of memory loss as predictors of cognitive impairment? The use and reliability of memory ratings in a clinical population. *Alzheimer Dis Assoc Disord*, 21(2), 101-106.
- Barnett, J. H., Salmond, C. H., Jones, P. B., & Sahakian, B. J. (2006). Cognitive reserve in neuropsychiatry. *Psychological Medicine*, 36(8), 1053-1064.
- Bickford, P. C., Gould, T., Briederick, L., Chadman, L., Chadman, K., Pollock, A., et al. (2000). Antioxidant-rich diets improve cerebellar physiology and motor learning in aged rats. *Brain Research*, 866, 211-217.
- Birks, J., Grimley Evans, J., & Lee, H. (2007). Ginkgo biloba for cognitive impairment and dementia. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2007, Issue 2, Art.No.: CD003120. DOI: 10.1002/14651858. CD003120.pub2.
- Blackwell, A. D., Sahakian, B. J., Vesey, R., Semple, J. M., Robbins, T. W., & Hodges, J. R. (2004). Detecting dementia: Novel neuropsychological markers of preclinical Alzheimer's disease. *Dement Geriatr Cogn Disord*, 17, 42-48.
- Blomhoff, R (2004). Antioksidanter og oksidativt stress. *Tidsskr for den Norske Legeforening* 12, 1643-1645.
- Braak, H., & Braak, E. (1991). Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol*, 82, 239-259.

- Butterfield, D. A., Reed, T., Perluigi, M., De Marco, C., Coccia, R., Cini, C., et al. (2006). Elevated protein-bound levels of the lipid peroxidation product, 4-hydroxy-2-nonenal, in brain from persons with mild cognitive impairment. *Neuroscience Letters*, 397, 170-173.
- Cambridge Cognition Limited (2006). *CANTABeclipse version 3 test administration guide*. Cambridge Cognition Ltd.: Cambridge.
- Cantuti-Castlevetri, I., Shukitt-Hale, B., & Joseph, J. A. (2000). Neurobehavioural aspects of antioxidants in aging. *Int. J Devl Neuroscience*, 18, 367-381.
- Carlesimo, G. A., Mauri, M., Graceffa, A. M., Fadda, L., Loasses, A., Lorusso, S., et al. (1998). Memory performance in young, elderly, and very old healthy individual versus patients with Alzheimer's disease: Evidence for discontinuity between normal and pathological aging. *Journal of Clinical and Experimental Neuropsychology*, 20(1), 14-29.
- Casadesus, G., Shukitt-Hale, B., Stellwagen, H. M., Zhu, X., Lee, H. G., Smith, M. A., et al. (2004). Modulation of hippocampal plasticity and cognitive behaviour by short-term blueberry supplementation in aged rats. *Nutritional Neuroscience*, 7, 309-316.
- Castellani, R. J., Lee, H., Perry, G., & Smith, M. A. (2006). Antioxidant protection and neurodegenerative disease: The role of amyloid- β and tau. *American Journal of Alzheimer's Disease and Other Dementias*, 21(2), 126-130.
- Cotman, C. W., Head, E., Muggenburg, B. A., Zicker, S., & Milgram, N. W. (2002). Brain aging in the canine: A diet enriched in antioxidants reduces cognitive dysfunction. *Neurobiology of Aging*, 23, 809-818.
- Crutcher, K. A. (2002). Aging and neuronal plasticity: Lessons from a model. *Autonomic Neuroscience: Basic and clinical*, 9, 25-32.
- Dai, Q., Borenstein, A. R., Wu, Y., Jackson J. C., & Larson, E. B. (2006). Fruit and vegetable juices and Alzheimer's disease: The Kame project. *The American Journal of Medicine*, 119, 751-759.
- Duffy, K. B., Spangler, E. L., Devan, B. D., Guo, Z., Bowker, J. L., Janas, A. M., et al. (2007). A blueberry-enriched diet provides cellular protection against oxidative stress and reduces a kainate-induced learning impairment in rats. *Neurobiology of Aging*, in press.
- Égerházi, A., Berecz, R., Bartók, E., & Degrell, I. (2007). Automated neuropsychological test battery (CANTAB) in Mild Cognitive Impairment and in Alzheimer's disease. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 31, 746-751.

- Elsabagh, S., Hartley, D. E., Ali, O., Williamson, E. M., & File, S. E. (2005). Differential cognitive effects of Ginkgo biloba after acute and chronic treatment in healthy young volunteers. *Psychopharmacology*, 179, 437-446.
- Engedal, K. (2003). Demens og demenssykdommer. I: K. Engedal & T. B. Wyller (Red.), *Aldring og hjerne-sykdommer* (s. 125-149). Oslo: Akribe Forlag.
- Engedal, K., & Haugen, R. K. (2004). Demens. I: K. Engedal & P. K. Haugen (Red.), *Demens. Fakta og utfordringer* (3. utg.) (s. 15-32). Sem: Nasjonalt kompetansesenter for aldersdemens.
- Feldman, H. H., & Jacova, C. (2005). Mild Cognitive Impairment. *Am J Geriatr Psychiatry*, 13(8), 645-655.
- Folstein M. F., Folstein, S. E., & McHugh, P. R. (1975). Mini Mental State. A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res*, 12, 189-198.
- Fratiglioni, L., & Wang, H-X. (2007). Brain reserve hypothesis in dementia. *Journal of Alzheimer's Disease*, 12, 11-22.
- Fray, P. J., Robbins, T. W., & Sahakian, B. J. (1996). Neuropsychiatric applications of CANTAB. *International Journal of Geriatric Psychiatry*, 11, 329-336.
- Fusco, D., Colloca, G., Lo Monaco, M. R., & Cesari, M. (2007). Effects of antioxidant supplementation on the aging process. *Clin interv aging*, 2(3), 377-387.
- Galli, R. L., Shukitt-Hale, B., Youdim, K. A., & Joseph, J. A. (2002). Fruit polyphenolics and brain aging. Nutritional interventions targeting age-related neuronal and behavioural deficits. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 959, 128-132.
- Glodzik-Sobanska, L., Reisberg, B., De Santi, S., Babb, J. S., Pirraglia, E., Rich K. E., et al. (2007). Subjective memory complaints: Presence, severity and future outcome in normal older subjects. *Dement Geriatr Cogn Disord*, 24, 177-184.
- Goyarzu, P., Malin, D. H., Lau, F. C., Taglialatela, G., Moon, W. D., Jennings, R., et al. (2004). Blueberry supplemented diet: Effects on object recognition memory & nuclear factor kappa b levels in aged rats. *Nutritional Neuroscience*, 7(2), 75-83.
- Greenwood, P. M. (2007). Functional plasticity in cognitive aging: Review and hypothesis. *Neuropsychology*, 21(6), 657-673.
- Halvorsen, B. L., Holte, K., Myhrstad, M. C. W., Barikmo, I., Hvattum, E., Remberg, S. F., et al. (2002). A systematic screening of total antioxidants in dietary plants. *Journal of Nutrition*, 132, 461-471.

- Hannay, H. J., Howieson, D. B., Loring, D. W., Fischer, J. S., & Lezak, M. D. (2004). Neuropathology for neuropsychologists. I: M. D. Lezak, D. B. Howieson & D. W. Loring (Red.), *Neuropsychological assessment* (4. utg.) (pp. 157-285). New York: Oxford University Press.
- Haugen, P. K., & Nygaard, Aa-M. (2003). *Tenåringen blir 74 år. Intellektuell utvikling gjennom livsløpet*. Sem: Nasjonalt Kompetansesenter for Aldersdemens.
- Isarida, T. (2005). Study-time effect on free recall within and out of context. *Memory*, 13(8), 785-795.
- Jones, S., Nyberg, L., Sandblom, J., Neely, A. S., Ingvar, M., Petersson, K. M., et al. (2006). Cognitive and neural plasticity in aging: General and task-specific limitations. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 30, 864-871.
- Joseph, J. A. (1992). The putative role of free radicals in the loss of neuronal functioning in senescence. *Integr Physiol Behav Sci*, 27(3), 216-227.
- Joseph, J. A., Shukitt-Hale, B., Casadeus, G., & Fisher, D. (2005). Oxidative stress and inflammation in brain aging: Nutritional considerations. *Nurochem Res*, 30, 927-935.
- Joseph, J. A., Shukitt-Hale, B., Denisova, N. A., Bielinski, D., Martin, A., McEwen, J. J., & Bickford, P. C. (1999). Reversals of age-related declines in neuronal signal transduction, cognitive, and motor behavioural deficits with blueberry, spinach or strawberry dietary supplementation. *Journal of Neuroscience*, 19, 8114-8121.
- Joseph, J. A., Shukitt-Hale, B., Denisova, N. A., Prior, R. L., Cao, G., Martin, A., et al. (1998). Long-term dietary strawberry, spinach or vitamin E supplementation retards the onset of age-related neuronal signal-transduction and cognitive behavioural deficits. *Journal of Neuroscience*, 18, 8047-8055.
- Joseph, J. A., Shukitt-Hale, B., & Lau, F. C. (2007). Fruit polyphenols and their effects on neuronal signaling and behaviour in senescence. *Ann. NY. Acad. Sci*, 1100, 470-485.
- Joseph, J. A., Villalobos-Molina, R., Denisova, N., Erat, S., Cutler, R., & Strain, J. (1996). Age Differences in sensitivity to H₂O₂- or no-induced deductions in K⁺-evoked dopamine release from superfused striatal slices: Reversals by PBN or Trolox. *Free Radical Biology and Medicine*, 20, 821-830.
- Joyce, C. A., Paller, K. A., McIsak, H. K., & Kutas, M. (1998). Memory changes with normal aging: Behavioral and electrophysiological measures. *Psychophysiology*, 35, 669-678.

- Kempermann, G., Gast, D., & Gage, F. H. (2002). Neuroplasticity in old age: Sustained fivefold induction of hippocampal neurogenesis by long-term environmental enrichment. *Annals of Neurology*, 52, 135-143.
- Kim, J-M., Stewart, R., Kim, S-W., Yang, S-J., Shin, I-S., & Yoon, J-S. (2006). A prospective study of changes in subjective memory complaints and onset of dementia in South Korea. *The American Journal of Geriatric Psychiatry*, 14(11), 949-956.
- Kløve, H. (1963). Clinical neuropsychology. I: F.M. Forster (Red.), *The medical clinics of North America*. New York: Saunders.
- Knopman, D. S., Parisi, J. E., Salvati, A., Floriach-Robert, M., Boeve, B. F., Ivnik, R. J., et al. (2003). Neuropathology of cognitively normal elderly. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, 62(11), 1087-1095.
- Landsberg, G. (2005). Therapeutic agents for the treatment of cognitive dysfunction syndrome in senior dogs. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological psychiatry*, 29, 471-497.
- Lau, F. C., Shukitt-Hale, B., & Joseph, J. (2006). Beneficial effects of berry fruit polyphenols on neuronal and behavioural aging. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86, 2251-2255.
- Lezak, M. D., Howieson, D. B., & Loring, D. W. (2004). The behavioral geography of the brain. I: M. D. Lezak, D. B. Howieson & D. W. Loring (Red.), *Neuropsychological assessment* (4. utg.) (s. 39-85). New York: Oxford University Press.
- Lowe, C., & Rabitt, C. (1998). Test/re-test reliability of the CANTAB and ISPOC neuropsychological batteries: Theoretical and practical issues. *Neuropsychologia*, 36, 915-923.
- Luszcz, M. A., & Bryan, J. (1999). Toward understanding age-related memory loss in late adulthood. *Gerontology*, 45, 2-9.
- Masaki, K. H., Losonczy, K. G., Izmirlian, G., Foley, D. J., Ross, G. W., Petrovitch, H., et al. (2000). Association of vitamin E and C supplement use with cognitive function and dementia in elderly men. *Neurology*, 54, 1265-1272.
- Matthews, C. G., & Kløve, H. (1964). *Instructional Manual for the Adult Neuropsychology Test Battery*. Madison WI: University of Wisconsin medical school.
- Milgram, N. W., Estrada, J., Ikeda-Douglas, C., Castillo, J., Head, E., Cotman, C. W., et al. (2000). Landmark discrimination learning in aged dogs is improved by treatment with an antioxidant enriched diet. *Soc Neurosci Abstr*, 26, 531.

- Milgram, N. W., Zicker, S. C., Head, E., Muggenberg, B. A., Murphey, H., Ikeda-Douglas, C. J., et al. (2002). Dietary enrichment counteracts age-associated cognitive dysfunction in canines. *Neurobiology of Aging*, 23, 737-745.
- Millis, S. R., Rosenthal, M., Novack, T. A., Sherer, M., Nick, T. G., Kreutzer, J. S., et al. (2001). Long-term neuropsychological outcome after traumatic brain injury. *J Head Rehabil*, 16(4), 343-355.
- Milton, N. G. N. (2004). Role of hydrogen peroxide in the aetiology of Alzheimer's disease. Implications for treatment. *Drugs Aging*, 21(2), 81-100.
- Montgomery S. A., & Åsberg, M. (1979). A new depression scale designed to be sensitive to change. *Brit J Psychiatry*, 134, 382-289.
- Morris, M. C., Evans, D. A., Bienias, J. L., Tangney, C. C., & Wilson, R. S. (2002). Vitamin E and cognitive decline in older persons. *Arch Neurol*, 59, 1125-1132.
- Neisser, U., Boodoo, G., Bouchard, T.J., Boykin, A.W., Brody, N., Cesi, S.J. et al. (1996). Intelligence: Knowns and unknowns. *American psychologist* 51; 77-101.
- O'Banion, M. K. & Finch, C. E. (1996). Inflammatory mechanisms and anti-inflammatory therapy in Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 17, 669-671.
- Ortega, R. M., Requejo, A. M., López-Sobaler, A. M., Andrés, P., Navia, B., Perea, J. M., et al. (2002). Cognitive function in elderly people is influenced by vitamin E status. *Journal of Nutrition*, 132, 2065-2068.
- Patterson, C., Feightner, J. W., Garcia, A., Hsiung, R., MacKnight, C., & Sadovnick, D. (2008). Diagnosis and treatment of dementia: 1. Risk assessment and primary prevention of Alzheimer disease. *CMAJ*, 178(5), 548-556.
- Petersen, R. C., Smith, G. E., Waring, S. C., Ivnik, R. J., Tangalos, E. G., & Kokmen, E. (1999). Mild Cognitive Impairment: Clinical characterization and outcome. *Arch Neurol*, 56, 303-308.
- Petersen, R. C., Stevens, J. C., Ganguli, M., Tangalos, E. G., Cummings, J. L., & DeKosky, S. T. (2001). Practice parameter: Early detection of dementia: Mild Cognitive Impairment (an evidence-based review): Report of quality standards subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology*, 56, 1133-1142.
- Rabbitt, P., & Lowe, C. (2000). Patterns of cognitive ageing. *Psychological Research*, 63, 308-316.
- Racine, C. A., Barch, D. M., Braver, T. S., & Noelle, D. C. (2006). The effects of age on rule-based category learning. *Aging, Neuropsychology, and Cognition*, 13, 411-434.

- Rapp, P. R., Rosenberg, R. A., & Gallagher, M. (1987). An evaluation of spatial information processing in aged rats. *Behavioural Neuroscience*, 101, 3-12.
- Raz, N., Lindenberger, U., Rodrigue, K. M., Kennedy, K. M., Head, D., Williamson, A., et al. (2005). Regional brain changes in aging healthy adults: General trends, individual differences and modifiers. *Cerebral Cortex*, 15, 1676-1689.
- Reid, L. M., & MacLullich, A. M. J. (2006). Subjective memory complaints and cognitive impairment in older people. *Dement Geriatr Cogn Disorder*, 22, 471-485.
- Ritchie, K., & Touchon, J. (2000). Mild Cognitive Impairment: Conceptual basis and current nosological status. *The Lancet*, 355, 225-228.
- Robbins, T. W., James, M., Owen, A. M., Sahakian, B. J., McInnes, L., & Rabbitt, P. (1994). Cambridge neuropsychological test automated battery (CANTAB): A factor analytic study of a large sample of normal elderly volunteers. *Dementia*, 5, 266-281.
- Ruff, R. M., & Parker, S. B. (1993). Gender- and age-specific changes in motor speed and eye-hand coordination in adults: Normative values for the Finger Tapping and Grooved Pegboard tests. *Perceptual and Motor Skills*, 76, 1219-1230.
- Sahakian, B. J., Owen, A. M., Morant, N. J., Eagger, S. A., Boddington, S., Crayton, L., et al. (1993). Further analysis of the cognitive effects of tetrahydroaminoacridine (THA) in Alzheimer's disease: Assessment of attentional and mnemonic function using CANTAB. *Psychopharmacology*, 110, 395-401.
- Satrústegui, J., Martínez-Serrano, A., Bogonez, E., Vitorica, J., Blanco, P., & Nuñez, E. (1991). Changes of calcium homeostasis in nerve endings during aging. *Z Gerontologie*, 24, 88-90.
- Schaie, K. W. (1994). The course of adult intellectual development. *American Psychologist*, 49(4), 304-313.
- Schönheit, B., Zarski, R., & Ohm, T. G. (2004). Spatial and temporal relationships between plaques and tangles in Alzheimer-pathology. *Neurobiology of Aging*, 25, 697-711.
- Shukitt-Hale, B. (1999). The effects of ageing and oxidative stress on psychomotor and cognitive behaviour. *Age*, 22, 9-17.
- Shukitt-Hale, B., Carey, A. N., Jenkins, D., Rabin, B. M., & Joseph, J. A. (2007). Beneficial effects of fruit extracts on neuronal function and behavior in a rodent model of accelerated aging. *Neurobiology of Aging*, 28, 1187-1194.
- Shukitt-Hale, B., Lau, F. C., & Joseph, J. A. (2008). Berry fruit supplementation and the aging brain. *J. Agric. Food Chem.*, 56, 636-641.

- Sies, H. (1997). Oxidative stress: Oxidants and antioxidants. *Experimental Physiology*, 82, 291–295.
- Sletvold, O. (2004) Hjernens aldring. I: K. Engedal & T. B. Wyller (Red.), *Aldring og hjernesykdommer* (s. 33-43). Oslo: Akribe forlag.
- Solé-Padullés, C., Bartres-Faz, D., Jungqué, C., Vendrell, P., Rami, L., Clemente, I. C., et al. (2007). Brain structure and function related to cognitive reserve variables in normal aging, Mild Cognitive Impairment and Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, doi:10.1016/j.neurobiolaging.2007.10.008.
- Spangler, E., Duffy, K., Devon, B., Guo, Z., Bowker, J., Shukitt Hale, B., et al. (2003). Rats fed a blueberry-enriched diet exhibit greater protection against a kainate-induced learning impairment. *Society for Neuroscience Abstracts and Proceedings*, 29, 38.12.
- Statistisk sentralbyrå (2007). Andel av befolkningen som er 65 år eller eldre. Utvalgte land. Statistisk årbok. (Tabell 105). Hentet fra Statistisk sentralbyrå 14. april, 2008: <http://www.ssb.no/aarbok/tab/tab-105.html>
- Stern, Y. (2002). What is cognitive reserve? Theory and research application of the reserve concept. *Journal of the International Neuropsychological Society*, 8, 448-460.
- Stern, Y., Habeck, C., Moeller, J., Scarmeas, N., Anderson, K. E., Hilton, H. J., et al. (2005). Brain networks associated with cognitive reserve in healthy young and old adults. *Cerebral Cortex*, 15, 394-402.
- Stromberg, I., Gemma, C., Vila, J., & Bickford, P. C. (2005). Blueberry- and spirulina-enriched diets enhance striatal dopamine recovery and induce a rapid, transient microglia activation after injury of the rat nigrostriatal dopamine system. *Experimental Neurology*, 196, 298-307.
- Sweeney, M. I., Kalt, W., MacKinnon, S. L., Ashby, J., & Gottschall-Pass, K. T. (2002). Feeding rats diets enriched in lowbush blueberries for six weeks decreases ischemia-induced brain damage. *Nutritional Neuroscience*, 5, 427-431.
- Toescu, E. C., & Verkhatsky, A. (2000). Parameters of calcium homeostasis in normal neuronal ageing. *Journal of anatomy*, 197, 563-569.
- Van Dongen, M., Van Rossum, E., Kessels, A., Sielhorst, H., & Knipschild, P. (2003). Ginkgo for elderly people with dementia and Age-Associated Memory Impairment: A randomized clinical trial. *Journal of Clinical Epidemiology*, 56, 367-376.
- Webster's New World Medical Dictionary (2. utg.) (2003). San Fransisco: Wiley Publishing Inc.

- Whalley, L. J., Deary, I. J., Appleton, C. L., & Starr, J. M. (2004). Cognitive reserve and the neurobiology of cognitive aging. *Ageing Research Reviews*, 3, 369-382.
- Whiting, W. L., & Smith, A. D. (1997). Differential age-related processing limitations in recall and recognition tasks. *Psychology and Aging*, 12(2), 216-224.
- Wolfe, K. L., & Liu, R. H. (2007). Cellular antioxidant activity (CAA) Assay for assessing antioxidants, foods, and dietary supplements. *J Agric Food Chem.*, 55, 8896-8907.
- Youdim, K. A., Shukitt-Hale, B., Martin, A., Wang, H., Devinsova, N., Bickford, P. C., & Joseph, J. A. (2000). Short-term dietary supplementation of blueberry polyphenolics: Beneficial effects on aging brain performance and peripheral tissue function. *Nutritional Neuroscience*, 3, 383-397.
- Youdim, K. A., & Joseph, J. A. (2001). A possible role of phytochemicals in improving age-related neurological dysfunctions: A multiplicity of effects. *Free Radical Biology & Medicine*, 30, 583-594.
- Zafra-Stone, S., Yasmin, T., Bagchi, M., Chatterjee, A., Vinson, J. A., & Bagchi, D. (2007). Berry anthocyanins as novel antioxidants in human health and disease prevention. *Mol. Nutr. Food Res.*, 51, 675-683.
- Zandi, P. P., Anthony, J. C., Khachaturian, A. S., Stone, S. V., Gustafson, D., Tschanz, J. T., et al. (2004). Reduced risk of Alzheimer disease in users of antioxidant vitamin supplements: The Cache county study. *Arch Neurol*, 61, 82-88.

Appendiks

Tabellen gir beskrivelse av de enkelte utfallsmålene brukt i studien

CANTAB:

DMS (delayed matching to sample)

Total correct all delays	Angir totalt antall forsøk hvor forsøkspersonen valgte korrekt stimulus på første forsøk i betingelsene der stimulus og de tre distraktorene ble presentert etter 0, 4000 eller 12000 ms forsinkelse.
Total correct 4000 ms delay	Angir totalt antall forsøk hvor forsøkspersonen valgte korrekt stimulus på første forsøk der stimulus og de tre distraktorene ble presentert etter 4000 ms.
Mean correct latency all delays	Angir gjennomsnittlig responshastighet i trials der målstimulus og de tre distraktorene ble vist etter 0, 4000 eller 12000 ms forsinkelse. Latensen måles i ms.

PAL (paired associates learning)

First trial memory score	Målet angir antall mønstre korrekt lokalisert etter første forsøk, summert over antall stadier fullført. Scoren går fra 0 til 22, der 22 betyr at alle mønstrene ble korrekt plassert på alle stadier på første forsøk.
Mean trials to success	Målet angir totalt antall trials brukt (max 10 pr stadie) for å lokalisere alle mønstrene over alle stadiene, delt på antall stadier gjennomført.
Total errors (adjusted)	Målet angir totalt antall feil, med en korrigering for stadier som ikke ble nådd.

PAL forts.

Total errors 6 shapes (adjusted)	Målet angir totalt antall feil gjort på 6-mønster stadiet, med en korrigering for personer som ikke nådde dette stadiet. Max score (hvis personen gjør alle plasseringene feil) er 60. Personer som ikke nådde stadiet får score 50.
Total errors 8 shapes (adjusted)	<p>Dette målet angir totalt antall feil gjort på 8-mønster betingelsen, med en korrigering for personer som ikke nådde dette stadiet. Max score (hvis personen gjør alle plasseringene feil) er 80. Personer som ikke nådde stadiet får score 70.</p> <p>Målet gir et godt bilde av personenes nivå, og er spesielt egnet til å måle hukommelse og ny læring hos høyt-fungerende individer der man vil være bekymret for tak-effekter.</p>

PRM (Pattern recognition memory)

Number correct	Angir antall korrekte responser
Mean latency	Angir gjennomsnittlig tid i ms. for korrekt respons.

SRM (Spatial recognition memory)

Number correct	Angir antall korrekte responser.
Mean latency	Angir gjennomsnittlig tid for korrekt respons, i ms.

Grooved pegboard:

Tid høyre/venstre	Angir tid for gjennomføringen av testen med høyre/venstre hand.
-------------------	-----------------------------------------------------------------